UNIVERSITE DE LIEGE
BELGIQUE

VOL. 19. 1948 - 1949

# ARCHIVES
## DE
# L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur Ray. BOUILLENNE

UNIVERSITY OF ARIZONA
FEB 15 1952
LIBRARY

### TRAVAUX PHYSIOLOGIQUES

1. — R. BOUILLENNE. La Rhizogenèse.
2. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Considérations scientifiques sur la Rhizogenèse chez les Houx.
3. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Le bouturage des Houx au moyen des hormones d'application.
4. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Le bouturage des Magnolias et des Conifères.
5. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. A propos du problème de la Rhizogenèse.
6. — R. BOUILLENNE, M. BOUILLENNE-WALRAND, R. NOEL et C. SIRONVAL. Sur l'utilisation du 2-4 D (2-4 acide dichlorophénoxyacétique) comme herbicide sélectif pour l'entretien des pelouses et des pépinières.
7. — C. SIRONVAL. Expérience sur l'isolement et la floraison des plants de *Fragaria vesca* L. var. *Semperflorens* DUCH.
8. — C. SIRONVAL. Observations sur la structure et le fonctionnement du méristème en rapport avec le développement chez *Fragaria vesca* L., var. *Semperflorens* DUCH.
9. — C. SIRONVAL. Note sur les rapports entre la forme des feuilles et le développement du Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges.
10. — A. WILLAM. La culture des tissus végétaux ; son importance théorique et pratique.

*[voir suite au verso.]*

*Les Éditions de*
LEJEUNIA
Liège 1951

580.6
L71
V.19
1948-49

11. — A. WILLAM. Technique nouvelle de culture de racines in vitro.

12. — P. J. MICHEL. Nouvelle technique de déshydratation des tissus végétaux et animaux en vue de la préparation des coupes anatomiques.

### TRAVAUX ÉCOLOGIQUES

13. — R. BOUILLENNE et P. FOURMARIER. A propos de l'évolution des sols dans les régions tropicales.

14. — J. RAMAUT. Quelques observations microbiologiques des tourbières acides du Trou-Brouly (Hauts-Plateaux de la Baraque-Michel).

15. — J. RAMAUT. Etude biochimique des tourbières acides de la Baraque-Michel. I. — Introduction et techniques chimiques.

16. — J. RAMAUT. Etude biochimique des tourbières acides de la Baraque-Michel. II. — Analyses de profils.

17. — P. DEUSE. Sur les caractères écologiques de *Molinia coerulea* MOENCH.

18. — P. DEUSE, H. HENIN et G. SEPULCHRE. Aperçu de la végétation des Roches-Noires à Comblain-au-Pont.

19. — A. MARECHAL. Découverte de *Lycopodium alpinum* L. au plateau de la Baraque-Michel.

20. — R. BOUILLENNE. Que devient le monde naturel ?

## CORRESPONDANCE ET ÉCHANGES

Pour tout ce qui concerne les ARCHIVES DE L'INSTITUT DE BOTANIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE, nous vous demandons de vouloir bien envoyer la correspondance à l'adresse suivante:

M. le SECRÉTAIRE des ARCHIVES de l'INSTITUT DE BOTANIQUE de l'UNIVERSITÉ de LIÈGE.

3, rue FUSCH, LIÈGE. (Belgique).

UNIVERSITE DE LIEGE — VOL. 19. 1948 - 1949
BELGIQUE

# ARCHIVES
## DE
# L'INSTITUT DE BOTANIQUE

sous la direction
du Professeur Ray. BOUILLENNE

### TRAVAUX PHYSIOLOGIQUES

1. — R. BOUILLENNE. La Rhizogenèse.
2. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Considérations scientifiques sur la Rhizogenèse chez les Houx.
3. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Le bouturage des Houx au moyen des hormones d'application.
4. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. Le bouturage des Magnolias et des Conifères.
5. — R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND. A propos du problème de la Rhizogenèse.
6. — R. BOUILLENNE, M. BOUILLENNE-WALRAND, R. NOEL et C. SIRONVAL. Sur l'utilisation du 2-4 D (2-4 acide dichlorophénoxyacétique) comme herbicide sélectif pour l'entretien des pelouses et des pépinières.
7. — C. SIRONVAL. Expérience sur l'isolement et la floraison des plants de *Fragaria vesca* L. var. *Semperflorens* DUCH.
8. — C. SIRONVAL. Observations sur la structure et le fonctionnement du méristème en rapport avec le développement chez *Fragaria vesca* L., var. *Semperflorens* DUCH.
9. — C. SIRONVAL. Note sur les rapports entre la forme des feuilles et le développement du Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges.
10. — A. WILLAM. La culture des tissus végétaux ; son importance théorique et pratique.

*[voir suite au verso.]*

*Les Éditions de*
LEJEUNIA
Liège 1951

11. — A. WILLAM. Technique nouvelle de culture de racines in vitro.

12. — P. J. MICHEL. Nouvelle technique de déshydratation des tissus végétaux et animaux en vue de la préparation des coupes anatomiques.

### TRAVAUX ÉCOLOGIQUES

13. — R. BOUILLENNE et P. FOURMARIER. A propos de l'évolution des sols dans les régions tropicales.

14. — J. RAMAUT. Quelques observations microbiologiques des tourbières acides du Trou-Brouly (Hauts-Plateaux de la Baraque-Michel).

15. — J. RAMAUT. Etude biochimique des tourbières acides de la Baraque-Michel. I. — Introduction et techniques chimiques.

16. — J. RAMAUT. Etude biochimique des tourbières acides de la Baraque-Michel. II. — Analyses de profils.

17. — P. DEUSE. Sur les caractères écologiques de *Molinia coerulea* MOENCH.

18. — P. DEUSE, H. HENIN et G. SEPULCHRE. Aperçu de la végétation des Roches-Noires à Comblain-au-Pont.

19. — A. MARECHAL. Découverte de *Lycopodium alpinum* L. au plateau de la Baraque-Michel.

20. — R. BOUILLENNE. Que devient le monde naturel ?

## CORRESPONDANCE ET ÉCHANGES

Pour tout ce qui concerne les ARCHIVES DE L'INSTITUT DE BOTANIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE, nous vous demandons de vouloir bien envoyer la correspondance à l'adresse suivante:

M. le SECRÉTAIRE des ARCHIVES de l'INSTITUT DE BOTANIQUE de l'UNIVERSITÉ de LIÈGE.

3, rue FUSCH, LIÈGE. (Belgique).

# PHYTOBIOLOGIE

par

R. BOUILLENNE

Professeur à l'Université de Liège.
Directeur de l'Institut et du Jardin de Botanique.

1 volume de 772 pages et 287 figures, avec frontispice dû au peintre-graveur P. DAXHELET

H. Vaillant-Carmanne, S. A., Editeur, place St-Michel, Liège — **480 francs belges**

---

Dans PHYTOBIOLOGIE, l'auteur traite l'ensemble des problèmes que soulève la vie des plantes. Dégagé des conceptions statiques qui décrivent et classent, il nous fait comprendre la dynamique végétale. Qu'il s'agisse des cellules, des tissus, des organes ou de leurs fonctions, l'auteur maintient aux yeux du lecteur la vision de l'ensemble de la plante qui croît, se développe et est soumise à la fois aux interactions des facteurs internes et à l'influence du milieu. Cela confère à ce traité une originalité toute particulière et une grande unité.

Il n'est pas encyclopédique. Il ne vise pas à donner tous les documents de la Botanique traditionnelle. Son intérêt réside dans le choix judicieux des questions traitées d'une manière claire et progressive qui place le lecteur devant l'évolution de la science, lui montrant l'état actuel de nos connaissances et indiquant la complexité des problèmes qui restent à étudier.

Souvent aussi l'auteur suggère des hypothèses de travail pouvant orienter de nouvelles recherches. De plus, il saisit toutes les opportunités de placer les végétaux au sein de la biosphère où il les étudie dans leurs rapports avec le sol, avec la lumière, avec l'atmosphère et avec les autres êtres vivants. Ce livre ne se contente pas d'instruire, il incite à penser ; il suscitera la curiosité des chercheurs.

L'ouvrage du Prof. Bouillenne est spécialement destiné aux biologistes, mais il contient l'essentiel de ce qui est nécessaire aux étudiants qui se préparent aux études de Médecine, de Pharmacie, de Médecine vétérinaire, de Chimie, de Géographie, de Géologie et de Minéralogie, d'Agriculture et d'Etudes coloniales, etc... Chaque groupe y trouvera, selon ses intérêts particuliers, les éléments de sa documentation.

(Voir Table des Matières au verso)

# CHAPITRES PRINCIPAUX

## INTRODUCTION A LA BOTANIQUE.

contenant un aperçu historique ainsi que des chapitres généraux sur l'organisation des plantes et l'organisation des cellules végétales.

## LA REPRODUCTION DANS LA SERIE VEGETALE.

Introduction sur le rôle de l'œuf et de la réduction chromatique.

**I. — LES THALLOPHYTES.**

a) Phycophycées. b) Mycètes.

**II. — LES BRYOPHYTES.**

a) Hépatiques. b) Muscinées.

**III. — LES PTERIDOPHYTES.**

a) Filicinées. b) Isoétinées. c) Psilotinées. d) Lycopodinées.
e) Equisétinées.

**IV. — LES SPERMATOPHYTES**

a) Gymnospermes. b) Angiospermes.

## BIOLOGIE DES ANGIOSPERMES.

**I. — LES RACINES**

a) Morphologie et Anatomie.

b) Physiologie :

A) Le sol dans ses rapports avec la plante.
B) Absorption de l'eau et des substances minérales dissoutes.
C) Accumulation des sels minéraux.
D) Fonctions subsidiaires des racines.

**II. — LES TIGES**

a) Morphologie et Anatomie.

b) Physiologie :

A) Translocation de l'eau et des substances dissoutes.
B) Translocation du Bol alimentaire.

**III. — LES FEUILLES.**

a) Morphologie et Anatomie.

b) Physiologie :

A) Transpiration. B) Photosynthèse. C) Respiration.

**IV. — LES FLEURS.**

Physiologie des organes floraux.

A) Causes physiologiques de la maturation sexuelle.
B) Déterminisme sexuel.
C) Fécondation.

## CINETIQUE DU DEVELOPPEMENT VEGETAL.

**I. — MOBILISATION DE L'ENERGIE ET BIOSYNTHESE.**

**II. — CROISSANCE.**

a) dans l'ordre cellulaire.
b) à l'échelle des organes : l'élongation.
c) La différenciation et l'organogenèse.

**III. — CROISSANCE DE L'ORGANISME TOTAL** (courbes de croissance).

**IV. — DEVELOPPEMENT.**

a) Cycle végétatif.
b) Phases de développement.

COLLOQUE INTERNATIONAL
DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
SUR LA MORPHOGENÈSE (Strasbourg, juillet 1949).

# LA RHIZOGENÈSE

PAR R. BOUILLENNE
(Professeur à l'Université de Liège).

Les phénomènes qui concernent l'apparition des racines chez les plantes ont posé un problème dont l'importance scientifique et pratique a été aperçue depuis longtemps déjà.

Jusqu'aux environs de 1890, la question histologique et anatomique fut traitée de plus en plus complètement. On sait aujourd'hui parfaitement bien comment et aux dépens de quels tissus les racines se constituent, quelles sont les phases premières de leur différenciation et les endroits habituels de leur apparition. Une pléiade d'hommes a déblayé le terrain ; elle a permis à ceux d'aujourd'hui de s'intéresser uniquement au côté physiologique de la formation des racines et au problème des corrélations de croissance entre tiges et racines.

Si nombre de plantes herbacées, arbustives ou arborescentes manifestent aisément des racines et constituent des boutures lorsque l'on place leurs rameaux dans le sol ou en vases de culture, il en est qui s'en montrent incapables, malgré les procédés les plus perfectionnés employés pour les propager.

Le fait que beaucoup de plantes de grandes cultures se rangent dans cette catégorie augmente l'importance du problème et lui donne un aspect économique. En effet, les variétés horticoles de nos arbres fruitiers, de même que les races sélectionnées des plantes coloniales cultivées en quantités industrielles comme le Thé, le Cacao, le Café, le Caoutchouc, etc., ne peuvent être multipliées à partir de graines : celles-ci étant souvent hétérozygotes, ne reproduisent pas à coup sûr les qualités particulières des parents.

Il faut recourir au procédé coûteux et souvent aléatoire de la greffe ; il faut cultiver préalablement des plantes qui serviront de support, il faut préparer les « clones » (greffons de l'arbre à propager) dont la vitalité est trop souvent précaire et le transport difficile ; il faut enfin un personnel spécialisé qui, malgré toute son habileté, n'obtient pas toujours le pourcentage de succès désirable.

Combien plus facile et économique la technique qui réussirait à faire apparaître des racines sur les « clones » et permettrait de propager ceux-ci par simple bouturage ?

Nous pensons que l'étude des conditions et des facteurs qui provoquent la néoformation de racines chez les plantes supérieures recevra un supplément



ANN. BIOL. — T. 26. FASC. 10, 1950.

d'intérêt à cause de son importance dans le domaine pratique et que les résultats acquis dans les laboratoires de science pure, transportés sur le terrain, pourront être utiles à tous.

***

Depuis longtemps, nous nous sommes intéressés aux diverses questions qui concernent la formation des racines chez les plantes supérieures. Notre premier travail réalisé à Liège date de 1930 (Bouillenne et Beltcheva, 1932), mais c'est au contact de la flore équatoriale de Java, à l'occasion d'un long séjour dans les Indes Néerlandaises et grâce aux circonstances qui nous ont permis de rencontrer le Directeur du Treub Laboratorium de Buitenzorg, F. Went, intéressé lui aussi à ces mêmes problèmes, que nous avons entrepris une étude analytique approfondie de la néoformation, sur les hypocotyles, chez les plantules de *Impatiens Balsamina* L., en même temps que F. Went expérimentait la néoformation des racines sur tiges de *Acalypha hispida* et *A. Wilkesiana* L. *triomphans*. Ces travaux ont été publiés simultanément et comprenaient une introduction et des conclusions communes rédigées en collaboration (Brill, Leiden, 1933).

Depuis cette époque, avec la collaboration constante de Mme Bouillenne-Walrand et de nombreux collaborateurs, nous avons continué et amplifié, à Liège, nos recherches sur les facteurs de la rhizogénèse.

En 1933, une distinction systématique avait été faite entre les facteurs qui produisent la croissance de racines (qui existent déjà sous forme de germes dans les tissus des tiges) et les facteurs qui déterminent la formation *de novo* de racines là où les tissus ne comportent préalablement aucune initiale.

Les résultats avaient apporté des faits suffisamment homogènes pour qu'il pût être conclu que les racines en néoformation apparaissent sous l'influence d'un complexe substantiel spécial et qu'elles ne sont pas dues, dans leur génèse, au seul jeu de substances nutritives, comme on le pensait généralement à cette époque.

F. Went et nous, avons ainsi formulé l'hypothèse de la *Rhizocaline*. Nous avions fait la part du rôle des substances nutritives qui intéressent surtout la croissance des racines une fois que celles-ci sont initiées.

La rhizocaline désigne donc le complexe substantiel qui est supposé déterminer la formation d'une racine *de novo*, c'est-à-dire d'un organe dont la structure est typique et qui comporte plusieurs catégories de tissus, d'un organe qui se constitue par un mécanisme physiologique de différenciation à partir d'un méristème.

C'est ainsi qu'il faut considérer que, dans chaque méristème radiculaire, existe un potentiel déterminé de différenciation... que ce méristème soit celui qui termine une racine existante en voie d'allongement, qu'il soit celui qui se constitue à partir de cellules déjà plus ou moins différenciées, après dédifférenciation et reprise des activités mitotiques. Ce potentiel de différenciation des méristèmes des racines est polyvalent quand on considère la nature des cellules auxquelles il donne naissance. Ces cellules doivent, selon nous, posséder des facteurs d'orientation.

Il faut donc distinguer :

1° les facteurs qui règlent la destinée de chaque cellule nouvelle ; celle-ci devenant une trachée, celle-là un tube grillagé ou une cellule conjonctive, etc.. Ces types de cellules sont les mêmes, qu'il s'agisse de tige, de racine ou de feuille et quel que soit le groupe systématique des Angiospermes ;

2° les facteurs qui disposent les cellules de différents types suivant un plan de structure d'où résulte l'installation d'une anatomie de racine, plutôt que de tige ou de feuille ;

3° les facteurs qui sont en rapport avec la constitution génétique de l'individu et qui font que la structure de l'organe est d'un modèle caractéristique de Monocotylées plutôt que de Dicotylées. Cette caractérisation peut être plus poussée encore et les dispositions structurales peuvent s'appliquer à une famille ou à un genre et même à une espèce particulière.

La détermination du sort des cellules continue à se réaliser d'une manière habituellement très constante au sein du méristème, car on n'a jamais démontré objectivement à notre connaissance, qu'une tige de Dicotylée peut prendre les caractéristiques de celle d'une Monocotylée, ni que l'extrémité d'une tige quelconque peut se mettre à former une structure de racine.

Cependant on observe fréquemment, dans tous les cas de bouturage et de marcottage, que des tiges donnent naissance à des racines adventives à partir de certains de leurs tissus (généralement péricycle de Van Tieghem, tissus épidermiques de certaines Crucifères) et on connaît des racines faisant apparaître des bourgeons adventivement sur leurs parties anciennes (Lilas, *Convolvulus arvensis*, etc...).

Les facteurs internes qui contrôlent le jeu des différenciations ne sont pas isolés à l'heure actuelle; mais l'étude des conditions d'apparition des racines et des bourgeons en néoformation sur tiges, racines ou même feuilles a permis de réaliser certains progrès qui orientent les recherches et suggèrent des vues cohérentes bien que partiellement hypothétiques.

Dans l'exposé qui va suivre sur l'évolution de l'étude de la rhizogénèse, nous ne pouvons citer les centaines de travaux publiés depuis 1933 sur cet important problème physiologique.

Nous nous limiterons aux résultats (principalement acquis dans les laboratoires de F. Went et les nôtres) qui jalonnent la progression des études et qui ont amené, nous-même et nos collaborateurs, à formuler l'actuelle conception du mécanisme de la rhizogénèse.

*
* *

Après avoir piétiné pendant plusieurs années par suite de l'assimilation aux auxines, des facteurs spécifiquement responsables de la différenciation radiculaire, le problème s'est éclairci ; de nombreux faits sont venus s'accumuler qui ont montré que les auxines, aux doses réactionnelles ($10^{-4}$, $10^{-5}$ mol.) qu'il faut employer pour provoquer une rhizogénèse massive sur des organes végétaux, ne sont pas des « déterminants spécifiques » mais uniquement des « révélateurs » de potentialités propres aux tissus expérimentés, et que leur action

ne diffère pas de celles d'autres agents physiques ou chimiques qui occasionnent ou accélèrent des mitoses.

Chercher à énumérer les nombreux produits dits radicigènes dont l'action souvent proche de la toxicité se révèle par une apparition de racines en nombre plus ou moins considérable, n'apporte aucune solution au problème fondamental de la rhizogenèse, pas plus que la constatation de l'action positive du carotène, Lazar, 1935, sur ce même phénomène ne constitue une explication du rôle du carotène dans la physiologie de la plante.

## MESURE DU POTENTIEL RHIZOGÉNIQUE

A l'état normal, il existe, dans les embryons, une racine principale (radicule) qui, au cours de la germination, s'allonge et se ramifie (1). Le potentiel radicigène d'une plantule se mesure par le nombre de racines nouvelles (latérales et adventives) que cette plantule arrive à former, *de novo*, sur la racine principale et sur l'hypocotyle ou la base de la tige (épicotyle) après amputation de la racine principale.

En travaillant sur diverses espèces de plantules et plus spécialement sur *Impatiens Balsamina*, on constate que le nombre de nouvelles racines est limité comme sont limitées les réserves des cotylédons ou des graines ; il reste le même si la plantule est à la lumière ou à l'obscurité. Une augmentation du nombre de racines se réalise plus tard à un moment bien défini de la vie de la plantule lorsqu'elle a étalé à la lumière ses premières feuilles adultes. Les réserves libèrent donc un élément responsable d'une formation de racines en nombre limité et constant dans chaque espèce ou variété. Cette limitation du nombre est très remarquable d'autant que les réserves nutritives sont loin d'être épuisées. De plus, elle est temporaire puisque l'on constate que, dans les feuilles adultes à la lumière, une quantité progressive d'un élément de rôle identique doit vraisemblablement être synthétisé.

Pour les plantules, la suppression des réserves par amputation des cotylédons (dans *Impatiens Balsamina*, par ex.) réduit considérablement le potentiel radicigène de l'hypocotyle. Lorsque celui-ci est nourri expérimentalement par un apport alimentaire de saccharose, il se maintient en vie pendant longtemps, mais ne reconstitue pas complètement ce potentiel. Un certain nombre de racines apparaît dans le sucre ; dans l'eau il ne s'en forme pas. En préparant les hypocotyles comme il est indiqué à la figure 1, on obtient un ensemble de tissus bien vivants, incapables de produire de nouvelles racines dans l'eau et susceptibles de répondre à divers traitements. Ces tissus permettent d'étudier quelles sont les conditions nécessaires à la néoformation des racines. Ils constituent un véritable *Root-test*.

Une étude anatomique du Root-test à ses divers niveaux ne révèle aucune

(1) Chez *Impatiens Balsamina*, il y a généralement 5 racines embryonnaires préformées qui croissent simultanément.

initiale des racines (sauf parfois à l'extrême base de l'hypocotyle près du niveau de la section, dans le voisinage immédiat des racines principales. Ce sont ces initiales qui dans certains témoins-eau forment 4 ou 8 racines restant très petites).

C'est ainsi que R. Bouillenne (1933) a prouvé, d'une part le rôle indispensable des sucres agissant comme « facteur limitant » de la rhizogénèse et, d'autre part, l'action positive des extraits de cotylédons, de graines, de feuilles,

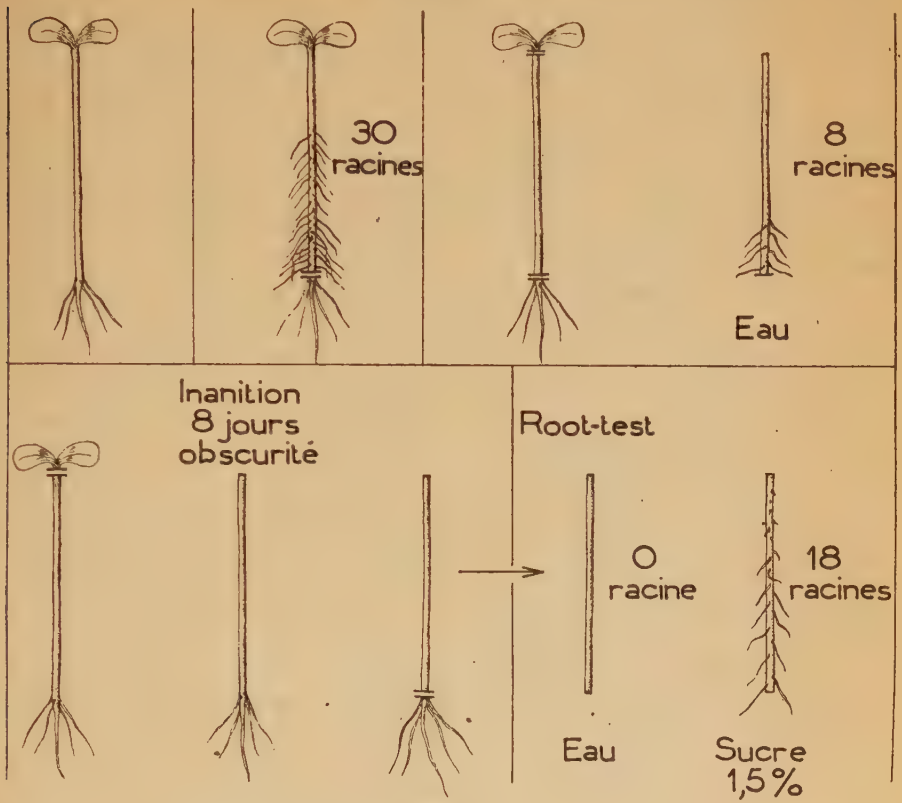



Fig. 1.

non seulement de l'espèce considérée mais aussi d'autres espèces. Il a pu montrer également le rôle favorable de l'oxygène.

De plus, Went (1933) en greffant des feuilles de *Sambucus javanica* sur *Acalypha* a réussi à faire produire des racines aux tiges de cette dernière plante alors que les témoins n'en forment aucune. Le facteur rhizogénétique a un pouvoir généralisé aux Spermaphytes : il existe dans le son de Riz ; il peut être incorporé dans de la gélose ; il est donc substantiel.

Bouillenne et Went ont signalé la curieuse polarité de sa circulation uniquement basipète, sa thermostabilité, sa synthèse dans les feuilles adultes et sa mise en réserve dans les graines et les bourgeons. Le nom de *Rhizocaline* fut donné sans rien préjuger de la nature chimique du complexe substantiel.

## QUELLE EST LA NATURE CHIMIQUE DE LA RHIZOCALINE?

Lorsque Thimann et Went (1934) ont tenté d'isoler la rhizocaline, ils ont obtenu une substance qui avait les mêmes propriétés que l'auxine. Ils ont conclu à l'identité des deux substances et, à ce moment, ils ont attribué aux auxines la fonction d'hormone rhizogénique avec d'autant plus de raisons que Kögl et ses collaborateurs, utilisant l'hétéroauxine de synthèse et divers éthers de l'acide β-indolacétique, ont produit sur les boutures une prolifération extraordinaire de racines nouvelles et que les travailleurs de Boyce Thompson Institution, ayant obtenu les mêmes résultats, avec les homologues supérieurs de cet acide (indol-butyrique, indol-propionique), ont appliqué industriellement cette propriété à l'horticulture et à l'arboriculture notamment fruitière.

Or, dès 1935, nous avions réussi à démontrer que les auxines ne pouvaient pas être considérées comme facteur rhizogénique en soi, mais bien comme des activants du métabolisme et comme révélateurs de potentialités rhizogéniques particulières (Paris, 1937) (1).

En 1938, nous avions pu communiquer à la Société Royale de Botanique de Belgique que des hypocotyles d'*Impatiens Balsamina* L. ayant été inanitiés par la technique du Root-test ne réagissaient pas à des doses croissantes d'auxines, même en présence de sucre, d'acides aminés et de vitamines diverses, tandis que ces mêmes doses d'auxines au contraire, augmentent considérablement le nombre de racines sur les hypocotyles non inanitiés de ces mêmes plantes (Voir tableau I).

Il en est d'ailleurs de même pour les épicotyles de cette plante. Nous avons confirmé sur épicotyles non inanitiés de *Impatiens Balsamina* la manière de voir de Went pour les épicotyles non inanitiés de *Pisum* où le facteur rhizogénique est mobilisé et redistribué par les auxines vers les endroits d'application.

Dans cette belle expérience sur épicotyles étiolés de *Pisum*, entiers ou coupés en fragments (2, 3, 4, 6, 8, 10 fragments par épicotyle) et traités à l'extrémité apicale (de l'épicotyle entier ou de chaque fragment d'épicotyle), Went montre clairement que :

1) l'acide β indol-acétique en forte concentration (0,5-2 milligrammes, par gramme de lanoline) amène une néoformation de racines beaucoup plus considérable que sur les témoins ;

2) les racines de néoformation apparaissent au sommet et à la base des épicotyles ou des fragments d'épicotyles ;

3) le nombre de racines apparues au total (aussi bien à la base qu'au sommet) sur chaque épicotyle est constant, que l'épicotyle soit entier ou découpé en 2, 3, 4, 6 fragments.

L'auteur en conclut qu'un facteur mobile distribué tout le long des épicotyles étiolés est attiré vers les endroits d'application.

Dès lors, il ne paraît pas douteux que, dans les organes non inanitiés, les

(1) Etudes et recherches sur les Phytohormones. Inst. Intern. de Coop. Intellect. Paris, 1938.

TABLEAU I

| Action rhizogénique de l'hétéroauxine sur | Matériel vivant longtemps en solution de sucrose 15 pour 1.000 | Faible concentration 10 γ ($10^{-7}$) biologique | Forte concentration 1, 5, 10 mg. et plus pour 1.000 réactionnelle |
|---|---|---|---|
| Plantules *Impatiens Balsamina*. Root-test inanitiés . . . . . | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina*. Hypocotyles inanitiés. . . . . | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina*. Epicotyles inanitiés . . . . . | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina*. Hypocotyles non-inanitiés . . . | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina* Epicotyles non-inanitiés . . . . | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes jeunes étiolées *Pisum*. Epicotyles (Went). . . . . | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes adultes de div. sp. Boutures | Pas de sucrose | Action : o | Action : + |

o = autant de racines que sur les témoins.
+ = plus de racines que sur les témoins.

auxines ont une action mobilisatrice d'un facteur qui disparaît par inanition. Lorsque ce facteur est éliminé, les auxines sont sans effet sur le nombre des racines formées.

Cette conclusion vient éclairer des expériences antérieures de COOPER (1935-1936) réalisées sur les boutures de *Citrus*. Les témoins de *Citrus* font très peu de racines à leur base. L'application d'hétéroauxine sur cette base augmente nettement le nombre de racines nouvelles. Lorsque cette base est amputée, que la bouture est traitée à nouveau par une même dose d'hétéroauxine, les boutures ne réagissent plus et les quelques racines qu'elles forment ne sont pas plus nombreuses que celles *apparues sur les témoins*.

De même, WENT, en 1938, s'était rallié à l'hypothèse première de la rhizo-

caline et avait proposé que le complexe rhizocaline devait nécessairement réagir avec l'auxine pour devenir actif (preparatory-reaction).

Cet auteur accepta donc, comme nous, l'existence d'un complexe substantiel, de nature hormonale, synthétisé dans les feuilles, circulant dans les tiges de manière polaire; il proposa, en outre, que ce complexe réagissait avec l'auxine et permettait ainsi l'apparition des racines nouvelles.

* * *

Depuis cette époque un certain nombre de nos collaborateurs travaillant les mêmes questions ont pu montrer que les auxines n'ont d'action rhizogénique sur les boutures que pour autant : 1) que les auxines soient utilisées en

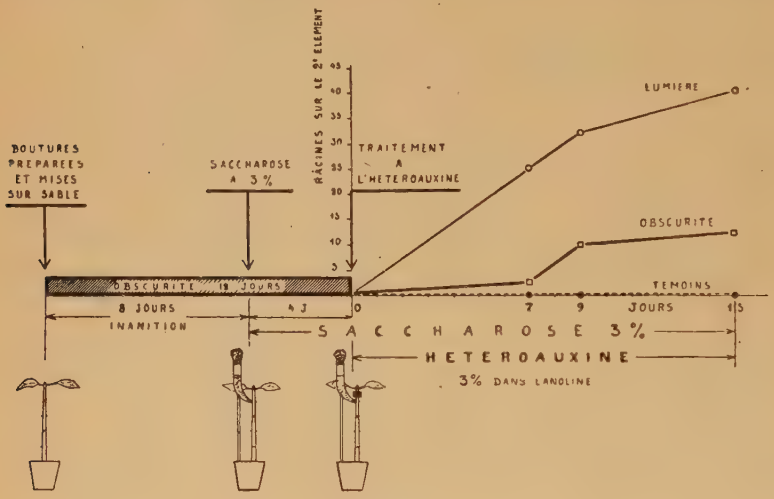



Fig. 2.

concentrations très fortes, non biologiques; 2) que ces boutures soient munies de feuilles et que ces feuilles soient à la lumière. En effet, Moureau (1941) a clairement prouvé que des boutures de tiges de *Coleus* ne présentent presque pas de racines sous l'action de l'hétéroauxine, lorsqu'elles sont dépourvues de feuilles, ou bien encore lorsque, munies de feuilles, elles sont à l'obscurité complète (et nourries artificiellement de sucres purissimes) (fig. 2).

Delarge également (1941), travaillant sur la culture *in vitro* des racines de Maïs en solution minérale glucosée, ou bien en solution minérale glucosée avec extrait de levure, a mis en évidence que l'action des auxines se limitait tout particulièrement aux zones méristématiques des racines en voie de croissance (fig. 3).

Nous voudrions rappeler ici une expérience importante de cet auteur : elle consiste à continuer la culture *in vitro* de racines ayant subi l'action de l'auxine pendant quelques heures et ayant répondu à cette action par une néoformation de racines au niveau des méristèmes. Ces racines replongées

dans un milieu favorable continuent leur croissance qui avait été bloquée par l'effet de la trop forte concentration des auxines. Les racines latérales extrê-

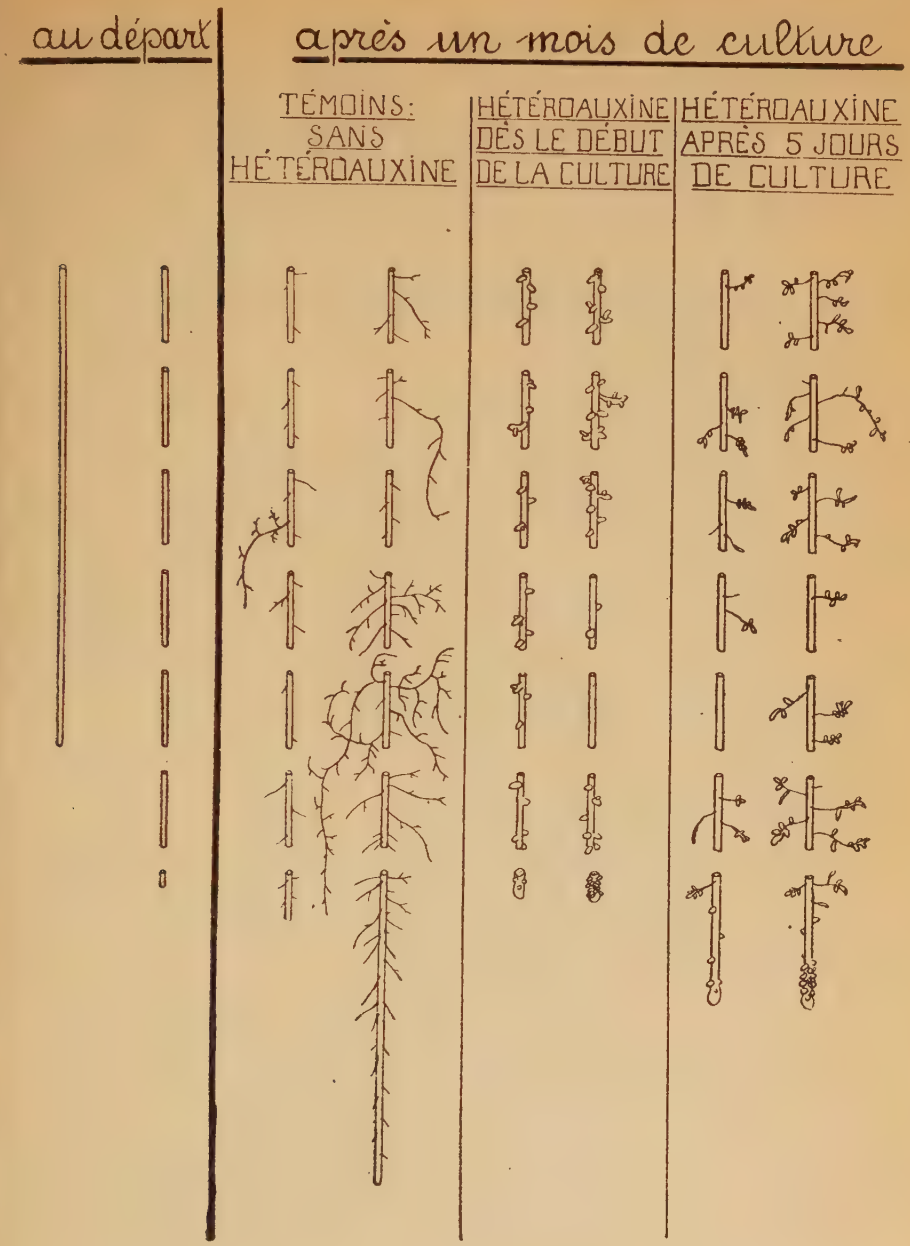



Fig. 3.

mement nombreuses qui avaient apparu sur le méristème s'allongent également. Une deuxième application d'auxines ne provoque plus de formation

radiculaire ni sur le méristème principal, ni sur les méristèmes latéraux, ce qui démontre que, dans les racines cultivées *in vitro*, il n'existe pas une capacité indéfinie dè produire des racines latérales et que cette capacité est rapidement épuisée par l'influence répétée d'auxines.

Rappelons aussi les résultats de dosage d'auxine que nous avons réalisé au cours de la germination des plantules de *Impatiens Balsamina* (1939) ; les quantités d'auxines existant dans les graines au départ s'épuisent rapidement et les hypocotyles tenus constamment en obscurité totale qui cependant font un certain nombre de racines adventives ne contiennent plus d'auxines dosables.

Nous en sommes donc arrivés à conclure que les auxines ne sont pas des substances rhizogéniques en soi : elles révèlent leurs aptitudes rhizogéniques seulement lorsqu'elles sont appliquées en forte concentration sur des organes qui sont munis de feuilles et qui sont, ou ont été, placés *à la lumière*.

Les principales étapes parcourues par la théorie de la rhizogénèse sont résumées dans le tableau II.

TABLEAU II

| | |
|---|---|
| 1933 : BOUILLENNE et WENT | Rhizogénèse = rhizocaline photosynthétisée dans feuilles vertes à la lumière et mobile. |
| 1934 : THIMANN et WENT | Auxine = rhizocaline. |
| 1934 : PH. WHITE | Sur cultures *in vitro* de méristèmes radiculaires : la croissance illimitée des pointes radiculaires en milieu nutritif (contenant de l'extrait de levure) infirme la théorie d'une hormone spécifique fournie par les feuilles et nécessaire à la croissance et à la différenciation radiculaire. |
| 1935 : BOUILLENNE | Auxine = activant métabolique.<br>Rhizocaline = hormone rhizogénique. |
| 1935 : SNOW | Hétéroauxine = cambial growth stimulus. |
| 1935 : ZIMMERMAN et collaborateurs | Découverte de nombreuses « root-forming substances » ou hormones radicigènes. |
| 1936 : COOPER | No rhizocaline, no roots. |
| 1936 : DELARGE | Auxine n'est pas le facteur de différenciation des racines latérales sur racines cultivées *in vitro*.<br>Facteur de différenciation = rhizocaline. |
| 1938 : WENT | Rhizocaline + auxine = racines.<br>No auxine, no roots.<br>No rhizocaline, no roots. |
| 1938 : BOUILLENNE | Auxine, sans action sur hypocotyles inanitiés et cultivés ensuite en milieu nutritif. |
| 1939 : BOUILLENNE | Rhizogénèse dépend partiellement d'un facteur cellulaire fixé. |
| 1939 : BOUILLENNE | Pas d'auxine dosable dans les tissus d'hypocotyles du Root-test en rhizogénèse active. |
| 1939 : MOUREAU | 1) Comme SNOW, 1935.<br>2) Hétéroauxine = activateur et amplificateur de processus rhizogéniques qui se produisent normalement plus tard ou plus lentement.<br>3) Hétéroauxine = action rhizogénique variable au prorata du nombre de feuilles laissées à la lumière. |
| 1939-1941 : DELARGE | L'auxine n'est pas un facteur rhizogène en soi. |
| 1942 : GAUTHERET | Il n'est pas possible de mettre en doute l'existence d'une hormone rhizogène (qui n'est pas l'auxine). |

Le tableau II fait donc apparaître que les auxines ont une action rhizogénique dans certaines conditions, mais que dans d'autres bien précises, elles ne jouent aucun rôle.

En considérant, sur un même matériel (les hypocotyles de *Impatiens Balsamina*) d'une part, les conditions de l'activité des auxines et d'autre part, leur inactivité, on constate que la différence qui se présente à première vue réside dans le fait des processus d'inanition.

Nous nous proposons ultérieurement d'envisager ce problème au point de vue métabolique ; mais auparavant, nous poserons la question suivante :

## QUEL EST LE FACTEUR RHIZOGÉNIQUE QUI DISPARAIT PAR INANITION ET PEUT-ON LE REMPLACER ?

Ayant constaté que les Root-tests de *Impatiens Balsamina* sont insensibles aux applications pharmacodynamiques d'auxines non seulement en ce qui concerne la place où les racines sont formées mais aussi quant à l'intensité de la rhizogénèse, nous avions dès 1938 recherché les constituants d'un milieu chimique qui pourraient chez ceux-ci provoquer un supplément de racines par rapport au milieu sucré seul. Il s'agissait en somme d'identifier ce qui dans les hypocotyles fonctionne comme le facteur rhizogénique mobile disparaissant par inanition et réagissant avec l'auxine.

Nous avons mis au point un milieu complexe (1) constitué de sucre, d'acides aminés, de vitamines diverses, de micro-aliments, d'oligo-éléments, qui a une action extrêmement favorable sur la survie des tissus des hypocotyles ou des épicotyles inanitiés. C'est ainsi que nous avons pu maintenir des cultures en parfait état pendant 90 jours et plus. Les racines de néoformation qui sont apparues sur ces organes inanitiés se sont allongées jusqu'à mesurer plus de 13 centimètres mais leur nombre n'augmente pas.

Il semble résulter de ces expériences que le facteur rhizogénique mobile, qui disparaît par inanition, n'est pas un des facteurs nutritifs introduits dans le milieu et que l'hétéroauxine ajoutée à ce milieu n'active en aucun cas la rhizogénèse, que le traitement soit appliqué à faible ou à forte concentration (tableau III).

(1) *Composition du liquide nutritif :* M. BOUILLENNE-WALRAND et R. BOUILLENNE progressivement étudié depuis 1938 et utilisé complet depuis 1940.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Saccharose | 15 | gr. pour 1.000 cm³ | |
| Acide β indol-acétique | 10 | γ | » |
| Vitamine $B_1$ | 1 | mgr. | » |
| Vitamine $B_6$ | 0,1 | » | » |
| Acide nicotinique | 0,5 | » | » |
| Acide ascorbique | 1 | » | » |
| Sulf. adénine | 0,5 | » | » |
| Pantothénate Ca | 0,25 | » | » |
| Glycine | 1 | » | » |
| α alanine | 1 | » | » |

TABLEAU III

*Recherches des constituants d'un milieu qui pourrait remplacer le facteur rhizogénique mobile dans les root-test inanitiés.*

Matériel vivant très bien pendant 90 jours.

| | | |
|---|---|---|
| Root-test inanitiés. | Eau (expérience témoin). | 0 R. |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose. | 19 R. |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + hétéroauxine : 2,5 mg./l. | 23 R. |
| | » 5 » | 19 R. |
| | » 10 » | 19 R. |
| | » 15 » | Toxique. |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + ac. am. 10 mg./l. | 25 (20) R. (1). |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + $B_1$. | 14 (40) R. (1). |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + ac. am. + $B_1$. | 16 (40) R. (1). |
| Root-test inanitiés, | Eau + sucrose + hétéroauxine : 10 mg./l. (24 h.). | |
| | + ac. am. | |
| | + $B_1$. | 22 R. |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + milieu complet : microaliments, ac. am., etc. (2). | 22 (40) R. (1). |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + milieu complet. | |
| | + hétéroauxine 10 mg./l. | 20 (40) R. (1). |
| Root-test inanitiés. | Eau + sucrose + milieu complet. | |
| | + hétéroauxine : 1 mg./l. (12 h.). | 17 R. |
| | » » 10 » | 17 R. |
| | » 50 » | Toxique. |

(1) Le chiffre ( ) donne la longueur en millimètres de la plus longue des racines, obtenue dans chaque culture.

(2) Le milieu complet que nous avons mis au point, dont la composition est donnée page précédente.

Cependant il est nécessaire et important de faire remarquer que, dans toutes nos expériences réalisées sur hypocotyles et épicotyles inanitiés cultivés en milieu complet en présence ou en absence d'hétéroauxine, nous avons mis en évidence qu'un certain nombre de racines apparaissait régulièrement, 20 à 30 racines, et celles-ci se forment sur toute la longueur de l'organe pour peu que l'atmosphère de la culture soit humide (80pour 100 d'humidité).

Cette double constatation concernant le nombre et la localisation des racines nous paraît extrêmement suggestive car elle démontre que si l'inanition enlève un facteur rhizogénique mobile réagissant avec l'auxine, elle n'en laisse pas moins en place, tout le long des hypocotyles, un facteur rhizogénique ne réagissant pas avec l'auxine et pouvant faire 20 à 30 racines quand le milieu nutritif n'est pas limitant. Nous avions déjà, en 1939, était frappé par ce fait constant et l'hypothèse s'était imposée à nous que dans le problème de la rhizogénèse, il devrait, pour une part, exister un facteur fixé (tableau II).

L'étiolement très poussé, pas plus que l'inanition, ne détruit ce pouvoir rhizogénique fixé le long des hypocotyles de *Impatiens Balsamina* L. Sur des hypocotyles fortement étiolés de 15 à 25 centimètres (fig. 4) on voit des racines

se former sur toute leur longueur et même jusque dans la prolifération en forme de massue qui apparaît généralement au sommet des hypocotyles après amputation des cotylédons.

Les contradictions apparentes entre les expériences où la rhizocaline se comporte comme un facteur mobile, mobilisable par les auxines et celles où elle apparaît comme un facteur fixé dans certaines cellules sont figurées dans le schéma fig. 5.

Fig. 4.

On a été ainsi amené à étudier les deux aspects de la question :

Quel est le facteur rhizogénique mobile naissant dans les feuilles à la lumière, circulant polairement vers le bas, mobilisable par l'auxine et, suivant Went, se combinant avec celle-ci?

Quel est le facteur rhizogénique fixé résistant à l'inanition, ne se combinant pas avec l'auxine et caractérisant les tissus des Root-tests d'*Impatiens Balsamina?*

## I. — FACTEUR RHIZOGÉNIQUE MOBILE

Nous savons assurément qu'à l'état naturel, ce facteur vient des feuilles et est synthétisé à la lumière. Moureau l'a révélé chez *Coleus* en tenant compte de l'influence des éléments nutritifs.

Il correspond à la conception de la rhizocaline que l'on a formulée au début de nos expériences.

Ce facteur est mobilisé par l'hétéroauxine vers les endroits d'application, soit vers le bas, soit même aussi vers le haut lorsque l'application est faite sur l'extrémité supérieure d'un hypocotyle ou d'un épicotyle (Expérience de Went résumée p. 602).

Il faut considérer aussi que c'est ce facteur qui circule vers les racines principales embryonnaires de la plantule pendant la préparation du Root-test par inanition.

Certaines expériences récentes faites à Liège sur le développement du Fraisier, par Cyrille Sironval, ont montré que l'apparition des racines est en connexion avec l'apparition de certaines substances dans les poils glandulaires des feuilles. Ces substances quittant les poils glandulaires se répandent dans les cellules épidermiques et sous-épidermiques, et prises par le courant circulatoire vers la base des hypocotyles, elles y conditionnent très clairement la formation de racines à des endroits qui correspondent à une concentration,

toujours la même, de ce produit. L'analyse microchimique montre qu'il s'agit de complexes substantiels liés à un noyau diphénolique en position ortho (fig. 6 et 7).

S'agit-il réellement de la substance active ou d'une substance résultant d'une combinaison de laquelle la rhizogénèse est induite ? Nous ne pouvons encore

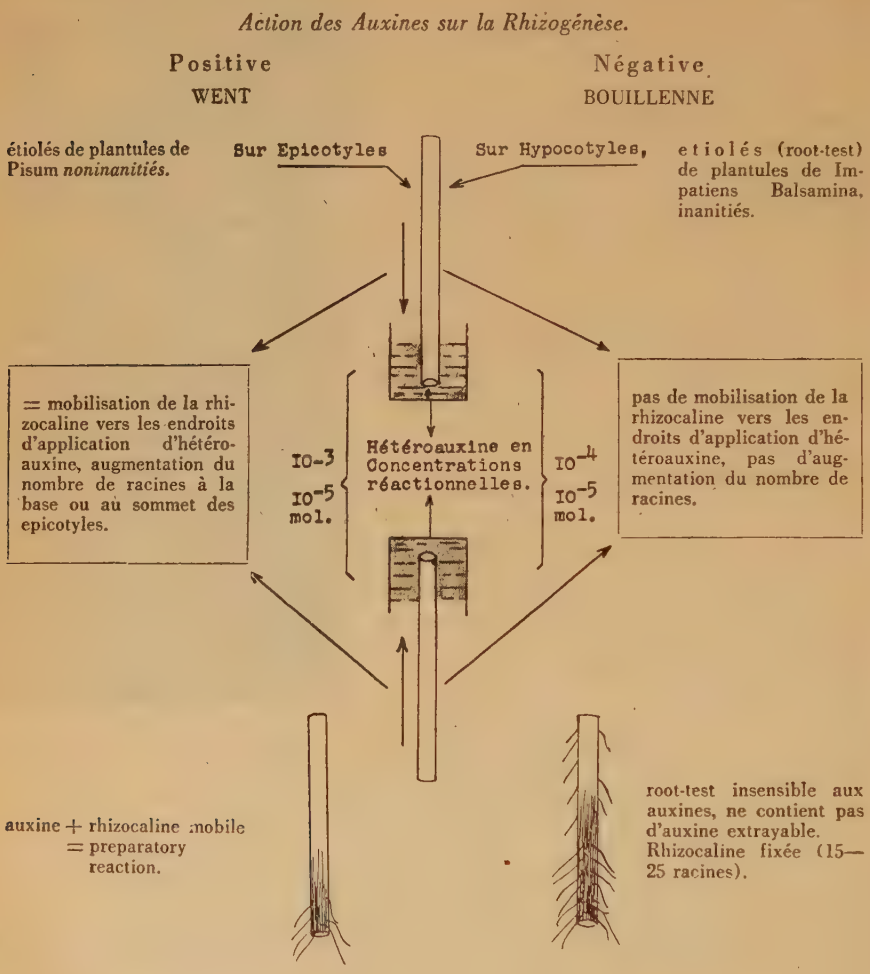



Fig. 5.

rien affirmer mais il paraît bien clair qu'un ortho-diphénol est connecté avec les phénomènes de la rhizogénèse provoquée par un facteur mobile.

D'autre part, le facteur rhizogénique mobile tout comme l'auxine voyage dans le phloème. C'est bien connu pour l'auxine et Cooper l'a démontré pour la rhizocaline. Ces deux catégories de substances peuvent se trouver emmagasinées dans les cotylédons ou les graines. Elles présentent dans diverses

expériences une polarité basipète caractéristique au sujet de laquelle WENT a attiré l'attention à maintes reprises.

La circulation polaire de l'auxine comme de la rhizocaline nécessite cependant un examen attentif.

Fig. 6.

*Objections au transport strictement polaire des calines et des auxines.*

Comment expliquer que ces deux substances qui apparaissent dans les expériences comme circulant uniquement dans le sens feuille-racine, selon une polarité stricte, puissent aussi, pour autant que notre hypothèse soit correcte, remonter en sens inverse dans les méristèmes des tiges, les graines et les embryons.

Nous ferons remarquer que les observations de polarité de transport ont été faites le plus souvent sur des végétaux sectionnés (dans le cas de boutures ou de feuilles détachées par exemple).

Ces conditions arrêtent les courants circulatoires qui existent dans un végé-

tal intact. Ces courants ont fait l'objet de nombreux travaux. Il semble bien qu'il n'y ait pas lieu de simplifier la circulation dans les plantes en la ramenant à la translocation des sels dissous dans le bois et de la matière organique dans le liber. Des expériences récentes, Crafts, 1938, Willan, 1945, donnent beaucoup de poids à l'idée que les matières en circulation, substances minérales ou organiques, arrivées au bout de leur course ne sont pas immobilisées où

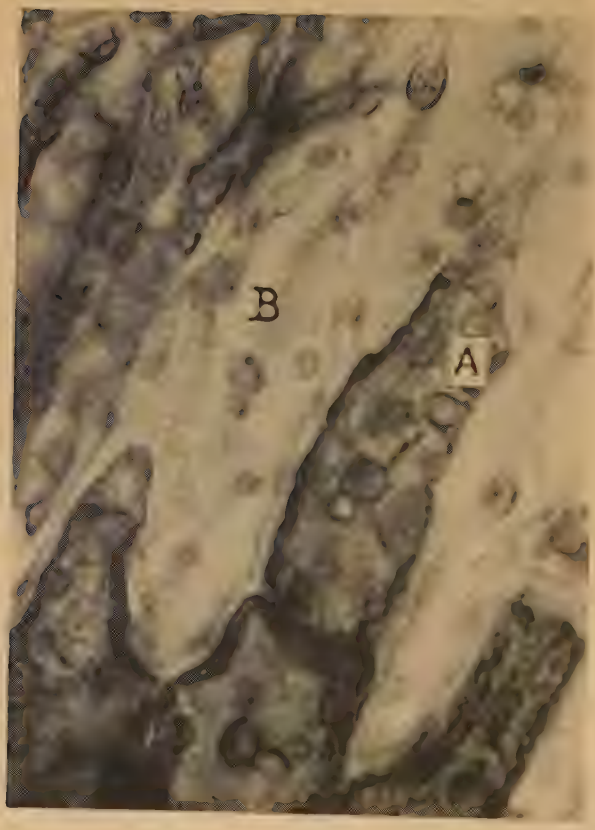



Fig. 7.

utilisées entièrement. L'excès repart en sens inverse dans le système circulatoire, même par des conduits différents : par exemple, les sels minéraux transportés par le bois jusqu'aux feuilles n'y sont pas tous combinés ; une grande partie d'entre eux passe dans le liber et est, par ce canal, de nouveau distribuée dans toute la plante. De plus, on sait maintenant qu'il peut exister une circulation à double sens de matières organiques simultanément dans le phloème (Palmquist, 1938).

Il s'agirait ainsi d'un circuit continu que le sectionnement d'un organe interrompt. La conséquence en est, selon nous, une apparence de polarité de

transport : la translocation continue à se faire dans un sens, mais les substances n'ont pas de possibilité de retour, par suite de la suppression des connexions vasculaires normales.

Nous estimons que cette polarité ne peut être que temporaire dans les boutures par exemple. Le circuit doit se reconstituer lorsqu'une nouvelle vascularisation est établie. C'est ce que l'on constate le plus souvent, lorsque des racines se sont reformées à la base de l'organe sectionné.

Donc, la stricte polarité basipète du transport de la rhizocaline mobile et de l'auxine est un phénomène temporaire qui apparaît par suite de la préparation du matériel expérimental ; cette polarité n'existe pas, tout au moins de manière aussi stricte, dans un végétal entier et par conséquent il n'y a pas de profondes difficultés à envisager l'existence d'une circulation de la rhizocaline mobile comme de l'auxine, remontant depuis les feuilles jusque dans les méristèmes des tiges et dans les centres d'embryogénèse à côté de celle qui existe depuis les feuilles vers la base des tiges et vers les racines.

Quant aux auxines, elles voyagent (d'après Voss, 1939) sous un état transitoire d'auxine inactive, vraisemblablement celle que Went appelle précurseur. Voss a constaté que sous cet état mobile, les auxines ne subissent pas la polarité feuilles-racines ; elles remontent, par exemple, des réserves du grain de Maïs en germination, par le scutellum, vers le sommet du coléoptile où elles sont transformées en auxines actives et où elles contrôlent la croissance. Voss a aussi observé que ces auxines actives migrent lentement vers le haut du végétal lorsqu'elles se trouvent en forte concentration. Cette constatation vient confirmer l'exposé fait plus haut sur l'entraînement de ces substances (contre une polarité basipète) dans le circuit fermé de la circulation normale.

## II. — FACTEUR RHIZOGÉNIQUE FIXÉ

Le Root-test de *Impatiens Balsamina* dont l'anatomie ne révèle aucune initiale radiculaire (1) et qui ne forme aucune racine dans l'eau, possède la capacité d'en néoformer entre 20 et 30 sur toute sa longueur, à condition qu'il soit placé dans du sucre ou dans un milieu nutritif complet (la seule différence observée étant celle de la longueur des racines et non leur nombre).

Ainsi donc l'inanition n'a pas totalement éliminé le pouvoir de faire des racines et l'hétéroauxine en forte concentration ajoutée au milieu ne déplace pas ce potentiel persistant après inanition.

Celui-ci est dispersé dans toute la hauteur des Root-tests, car les 20-30 racines que l'on observe habituellement en milieu nutritif favorable et en atmosphère suffisamment humide se présentent tout le long de l'axe et, de plus, si l'axe

(1) Si l'amputation des racines principales a été faite soigneusement et a éliminé les initiales peu nombreuses qui parfois existent à l'extrême base de l'hypocotyle.

est coupé, tous les fragments sont capables de néoformer des racines. Nous avons pu, en 1933, mettre en évidence que le nombre de racines apparues sur les fragments était proportionnel à la longueur de ceux-ci.

Il ne paraît pas possible d'échapper à l'évidence que ce potentiel est fixé cellulairement et qu'il doit exister nécessairement dans les cellules qui sont le point de départ des méristèmes nouveaux de racines comme nous l'avons supposé en 1939.

D'ailleurs, les anatomistes qui ont, à la suite de Van Tieghem, étudié parfaitement l'origine des racines latérales ont établi que celles-ci naissent à partir des péricycles dans les racines principales, des péricycles des faisceaux libéro-ligneux de tiges et de feuilles et quand il y a formation du tissu secondaire, à partir des cambium (face libérienne).

Les morphologistes donc ont toujours mis l'accent sur le fait que les racines se forment dans des tissus déterminés et les auteurs anglais, à la suite de Priestley, insistent encore aujourd'hui sur ce point.

C'est ici donc que, dans l'étude de la rhizogénèse et à propos du facteur fixé qui nous occupe, nous rejoignons les points de vue morphologiques.

*
* *

A présent il convient de pousser l'analyse, au point de vue physiologique, de la nature des cellules ainsi déterminées. Est-ce possible avec les moyens dont nous disposons? ... Et d'abord, sommes-nous certains que le potentiel rhizogénique fixé des Root-tests inanitiés est épuisé avec la formation des 20-30 racines observées en milieu nutritif tout le long de l'axe hypocotylaire.

Ce potentiel n'est pas épuisé car, la fragmentation des hypocotyles provoque des mitoses et un nombre considérable de racines supplémentaires, que celles-ci soient visibles ou qu'elles soient microscopiques, comme R. Noel l'a mis en évidence. Cet auteur a pu fragmenter des hypocotyles d'*Impatiens Balsamina* en morceaux aussi petits que 5 millimètres de hauteur. Ces fragments placés dans le liquide nutritif complet (augmenté d'hétéroauxine en concentration biologique) parviennent à se maintenir en survie parfaite pendant plus de 3 mois et font apparaître chacun des racines en néoformation : une racine au moins par millimètre de hauteur et, en général, 5 à 8 racines par fragments de 5 millimètres.

La somme des racines apparues ainsi est plus grande que le nombre des racines formées sur l'hypocotyle entier. Ce potentiel est jusqu'à présent le maximum observable, étant donné qu'il est impossible de maintenir en survie des fragments plus petits.

Si l'on compare les résultats obtenus par la fragmentation des Root-tests, qui ont subi une inanition préalable, aux résultats donnés par la fragmentation des hypocotyles non inanitiés, on constate que les non-inanitiés font au total une moyenne de 117 racines tandis que les inanitiés en font 70. Ce résultat confirme nos conclusions précédentes.

## PROPOSITION D'UNE THÉORIE DE LA RHIZOGENÈSE

En vue de concilier les faits en apparence contradictoires d'une capacité rhizogénique fixée tout au long d'un organe, non éliminée par inanition, non mobilisable par les auxines, et d'un facteur rhizogénique mobile voyageant d'un bout à l'autre d'un organe sous l'influence de ces mêmes auxines, nous avons proposé, en 1945, une théorie dont voici l'essentiel d'après le texte d'une communication au 6e Congrès International de Cytologie expérimentale de Stockholm, en juin 1947 (voir fig. 8 et 9).

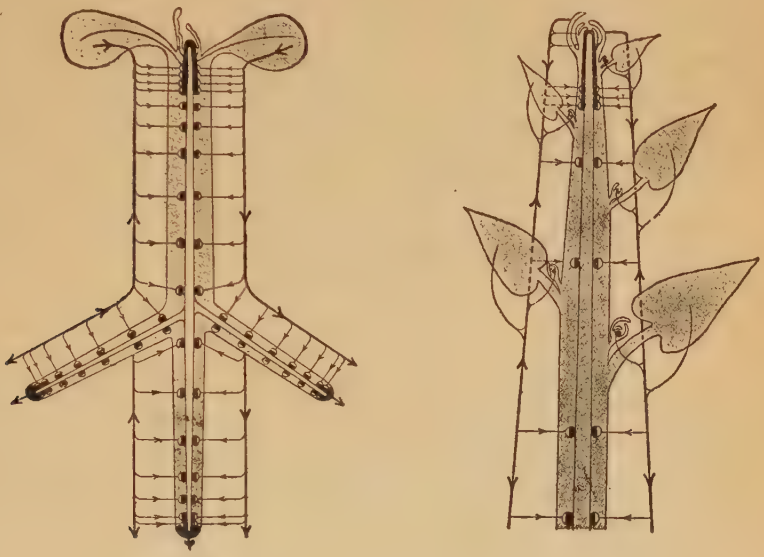


Fig. 8 et 9.

La rhizocaline postulée naguère est un ensemble de facteurs de différenciation radiculaire constitué au moins de trois éléments différents :

1) Un facteur mobile de nature hormonale venant des feuilles et synthétisé à la lumière;

2) Les auxines synthétisées également dans les feuilles, emmagasinées dans les bourgeons et les graines ;

3) Un facteur cellulaire existant seulement dans certaines cellules et, réalisant dans ces cellules la réaction qui combine le facteur mobile et les auxines.

Ce facteur cellulaire fonctionne donc aussi comme facteur de localisation.

La réaction de fixation et de localisation est, selon nous, le départ de la chaîne réactionnelle qui déclenche la différenciation radiculaire et elle fait partie du métabolisme oxydatif des cellules étant donné sa réponse positive à l'oxygène gazeux et aux oxydants.

Elle est rendue possible dans certaines cellules par la présence dans ces

cellules d'un enzyme, qui est distribué dans les types de cellules en question au moment de leur formation dans les méristèmes ou les embryons, grâce à des phénomènes de localisation de substances, ressemblant à ceux qui ont été décrits au cours des phases de l'embryogénèse animale. Il pourrait être lié aux gènes comme nous l'avons suggéré en 1939.

Nous admettons donc que, dans le complexe « rhizocaline » (sens primitif), au moins trois facteurs sont nécessaires pour que certaines cellules puissent être le point de départ d'une initiale radiculaire :

*Complexe rhizocaline = rhizocaline mobile + auxine + enzyme cellulaire.*

Nous pensons que la réaction de fixation de la rhizocaline doit se faire selon un processus dans lequel l'auxine agit comme co-enzyme d'une déhydrogénase spécifique. Un tel comportement de l'auxine a été proposé et partiellement vérifié dans l'allongement cellulaire (Avery, 1943). Notre hypothèse n'implique pas que la fixation dépende de la même réaction enzymatique que celle qui préside à l'allongement cellulaire ; on sait aujourd'hui que le même corps peut servir de co-enzyme à plusieurs enzymes spécifiques.

## DISCUSSION DE LA THÉORIE

### 1. — Rôle des auxines.

Rappelons que la première phytohormone isolée, l'auxine, fut identifiée par son action spécifique sur l'élongation des cellules.

Le problème se compliqua lorsqu'il apparut que les auxines (auxines *a* et *b*, hétérauxine ou acide B indolacétique) étaient ou paraissaient être des hormones spécifiques, non seulement de l'élongation cellulaire (croissance) mais aussi de l'inhibition des bourgeons, de la formation et de la croissance des racines, de la division cellulaire (cambium, cals indifférenciés), etc...

Comment expliquer ces actions apparemment spécifiques des auxines dans divers phénomènes de biologie végétale? Pouvait-on réellement parler de spécificité, alors que les auxines semblaient à cette époque jouer le rôle de porteur général des corrélations? Divers chercheurs, dès 1935, ont proposé de considérer le rôle des auxines dans ces divers phénomènes comme ayant une action indirecte : soit sur le métabolisme cellulaire, Bouillenne, 1935-1937, soit sur le transport et la mobilisation des métabolites, Neil Stuart, 1938.

Après 10 ans de recherches, le problème des auxines est déjà fortement éclairci. On sait maintenant que les auxines agissent sur la partie du mécanisme respiratoire cellulaire, intéressant les acides dicarboxyliques à 4 carbones, Albaum et Commoner, 1941, Commoner et Thimann, 1941. Or, ces mêmes acides dicarboxyliques à 4 C. règlent par leur métabolisme oxydatif la pénétration des sels dans les cellules, Commoner et Mazia, 1942, et aussi par voie de conséquence celle de l'eau. 10 pour 100 environ de la respiration normale

d'un coléoptile d'Avoine sont contrôlés par l'auxine et cette étape métabolique est indispensable à l'allongement, WENT, 1945.

Ce serait donc le système respiratoire énergétique « auxine-déhydrogénase-acides dicarboxyliques à 4 C », qui contrôlerait les phénomènes de croissance. Dans ce système, l'auxine jouerait le rôle de co-enzyme, AVERY, 1943.

Comme le dit F. WENT : « This would take auxine completley out of the classification of « stimulant » and make it a specific component of a known chemical reaction. It explains the quantitative relationships between auxin and growth, its specificity and its indispensability ».

### 2. — Nature de la réaction de fixation.

Par ailleurs, nous devons préciser que le type de la réaction doit être celui d'une réaction enzymatique oxydative, tout comme pour l'allongement cellulaire. Cela entraîne aussi comme conséquence que le facteur mobile ne peut être autre chose qu'un corps facilement oxydable. Or, actuellement, les études sur la cinétique de la rhizogénèse (néoformation et croissance) ont toutes montré que ces phénomènes exigent la présence d'oxygène (BOUILLENNE, 1933, PRÉVOT, 1939, WHITE, 1939, SKOOG, 1944). La généralité de cette constatation nous apporte une confirmation de la probabilité que notre hypothèse de travail s'oriente dans une direction correcte.

Les travaux récents n'accordent plus guère de crédit à l'idée que le métabolisme général posséderait une valeur morphogénétique directe ; ils postulent l'existence de substances organisatrices de structure. La biochimie cherche à caractériser les corps ou les radicaux fonctionnels, sur lesquels, dans le métabolisme cellulaire, reposent les fonctions spécifiques d'organisation aussi bien chez les animaux que chez les végétaux.

Non seulement la forme, mais aussi la couleur des organes s'avèrent comme contrôlées par des substances diffusibles. TATUM et HAAGEN-SMIT (1941), par exemple, ont montré que dans la série des réactions qui aboutissent au pigment brun des yeux des Drosophiles le précurseur est vraisemblablement le *l*.tryptophane.

Précurseur → V + hormone → *cn* + hormone → pigment brun.

La V + hormone est analogue ou identique à un ester de sucrose et de *l*.kynurérine ; ce dernier corps se produit dans le métabolisme du *l* tryptophane chez un *Bacillus sp.* nourri en déficience vitaminique (la vitamine $B_6$ ou pyridoxine).

### 3. — Localisation de la réaction de fixation.

La combinaison de fixation, grâce à cet enzyme, se produirait seulement dans certaines cellules qui seraient seules à posséder l'enzyme ou à l'acquérir ; elle se réaliserait au cours de l'embryogénèse, progressivement, au prorata de

l'arrivée du facteur rhizogénique mobile et des auxines, puis ensuite au cours de la croissance méristématique et de la formation du cambium. La combinaison de fixation pourrait se faire en outre dans toute nouvelle cellule qui aurait reçu ce facteur de fixation, au prorata de l'arrivée des deux autres facteurs (voir fig. 9).

Là, où la combinaison a eu lieu, les auxines ajoutées supplémentairement ne sont pas actives et, de plus, il n'est pas possible d'en extraire. Là, où la combinaison n'est pas encore faite, les auxines ajoutées sont actives, comme par exemple dans les méristèmes des racines, cultivées *in vitro*, d'après Delarge, mais il peut y avoir dans ce cas d'autres facteurs limitants que les auxines, soit l'élément cellulaire enzymatique lui-même, soit le facteur mobile rhizogénique venant des feuilles. On peut imaginer des cas où les trois facteurs sont déficients.

Qu'il nous soit permis de rappeler une expérience de Delarge réalisée en 1935 et publiée dans le *Bulletin Soc. Botanique de Belgique* sur *Crinum Capense*. Cette expérience pourrait répondre à la question de savoir ce qui se passe quand l'un ou l'autre des facteurs nécessaires vient à manquer.

La germination des jeunes bulbes de cette espèce fait apparaître successivement des feuilles et des racines. L'auteur ayant supprimé les feuilles et les racines à mesure de leur apparition et ce, pendant plusieurs mois, a obtenu le résultat que la tige n'a plus formé ni feuilles, ni racines, et comme les réserves du bulbe étaient loin d'être épuisées, il s'est produit une prolifération cellulaire intense en forme de cals, soit du côté racines, soit du côté bourgeons; l'analyse de ces cals a révélé que les cellules nouvelles abondamment formées ne manifestent plus de structure quelconque et sont de type uniquement conjonctif.

Les facteurs de différenciation ou l'un d'entre eux sembleraient dans cette expérience avoir été épuisés par les amputations successives des feuilles et des racines.

Cette conclusion tirée du travail de Delarge nous a paru longtemps audacieuse, mais elle vient cependant d'être confirmée par une expérience du Professeur Wardlaw, parue en 1947 dans *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* et dans laquelle cet auteur a obtenu un résultat identique en supprimant à mesure de leur apparition les racines et les feuilles formées par le rhizome d'une Fougère *Dryopteris aristata* Druce. L'extrémité de la tige au bout d'un certain temps s'est transformée en un cal indifférencié, proliférant abondamment.

### 4. — Réponse aux objections venant de la culture des organes.

Cependant, malgré l'importance des faits acquis en faveur de la théorie de la rhizocaline et des « calines » en général, une forte opposition a été soulevée à la suite des résultats obtenus par les spécialistes de la culture des organes *in vitro*.

On sait que les cultures *in vitro* de méristèmes radiculaires ont établi des

milieux de culture synthétiques capables de tenir indéfiniment en activité des méristèmes. Ph. White a montré déjà en 1934 que les feuilles ne sont pas indispensables à leur croissance indéfinie. Ceux-ci sont capables, par repiquages successifs, de se développer indéfiniment et de donner naissance continuellement à de nouvelles ramifications, pourvu qu'on les mette dans un milieu approprié contenant les macro et les micro-aliments indispensables (sucres, sels minéraux, extraits de levure). Ces expériences ont toujours été faites à la lumière.

White, 1939, en a conclu que la rhizocaline, facteur hormonal élaboré dans les feuilles, à la lumière et responsable de la différenciation radiculaire, n'est pas indispensable à la néoformation et à la croissance des racines et que le concept des « calines » en tant qu'organisateurs de structure est incompatible avec la culture *in vitro* des méristèmes radiculaires.

Cette objection venant des observations sur la croissance continue des racines n'est pas convaincante. En effet, les méristèmes radiculaires *in vitro* sont capables de synthétiser l'auxine (Van Overbeeck, 1939). Ils peuvent aussi, à notre avis, être capables (même si ce n'est pas leur fonction normale dans un végétal formé de différents membres unis dans leurs activités par le jeu des corrélations) de synthétiser la rhizocaline au moyen des éléments qui leur sont fournis par un milieu nutritif complet. N'oublions pas que toutes ces cultures ont été faites à la lumière. Or, il a été prouvé que la synthèse de la vitamine C, par exemple, qui, dans une plante normale, se fait dans les parties vertes, à la lumière, peut se faire dans les racines excisées de Chrysanthème (Weintraub, 1940) dont les sommets à la lumière développent un peu de chlorophylle.

Il faut aussi se rappeler que les racines excisées de Tomates, en culture *in vitro* sur milieu nutritif, sont capables, à condition qu'on leur donne la portion thiazolique de faire la synthèse de la portion pyrimidique de la vitamine $B_1$, hormone de croissance des racines, tandis que les racines de Pois sont incapables de faire cette synthèse, Bonner (1938).

Il est bien évident que le jeu des compensations biologiques amène certains organes ou morceaux d'organes isolés à se comporter au point de vue de leurs potentialités biochimiques d'une manière toute différente de celle qu'ils exhibent dans le végétal en entier.

Les arguments tirés de la culture des tissus isolés ne nous paraissent donc pas suffisants pour réfuter les très nombreuses expériences qui montrent que les néoformations d'organes dépendent de facteurs spécifiques.

## RÉSUMÉ

Pour terminer, confrontant les résultats apparemment contradictoires obtenus par certains auteurs et par nous-mêmes, nous sommes arrivés à mettre en évidence deux états de la rhizocaline dans les plantes supérieures :

1) un état fixé, intégré dans les constituants de certains types de cellules,

aussi bien au cours de la différenciation des tissus à partir des méristèmes de racines et de tiges que pendant les phases de l'embryogénèse ;

2) un état mobile de la rhizocaline qui circule à partir des feuilles où elle est synthétisée à la lumière. La rhizocaline mobile devient fixée par une réaction particulière de fixation dans laquelle l'auxine intervient.

La combinaison

*Rhizocaline mobile + auxine*

se produit dans certaines cellules seulement (péricycle, cellules de phloème, cellules cambiales, etc.), c'est-à-dire dans des types de cellules à partir desquelles on sait que les germes des racines sont généralement initiés.

La réaction de fixation est donc localisée. Elle est rendue possible par la présence, dans certaines cellules, d'un enzyme génétiquement synthétisé ou distribué dans ces cellules, au moment de leur formation dans les méristèmes ou les embryons, grâce à des phénomènes de localisation de substances, ressemblant à ceux qui ont été décrits au cours des phases de l'embryogenèse animale.

Nous admettons donc que, dans la rhizogénèse, au moins trois facteurs sont nécessaires pour que certaines cellules puissent être le point de départ d'une initiale radiculaire :

*Rhizocaline mobile + auxine + enzyme cellulaire oxydasique.*

Cette réaction spécifique est, selon nous, la première d'une chaîne de réactions qui aboutissent à la différenciation de la structure radiculaire.

*Institut Botanique de l'Université de Liège*
*(Laboratoire de Physiologie végétale*
*et Centre national de Recherches des Hormones végétales).*

## BIBLIOGRAPHIE

1. Bouillenne (R.) et Beltcheva (H.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **109**, 575.
2. Bouillenne (R.) et Went (F.). — *Annales Jard. Bot. Buitenzorg*, 1933, **43**.
3. Thimann et Went (F.). — *Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam*, 1934, **24**, 260.
4. Kögl (H.), Haagen-Smit et Erxleben. — *Physiol. Chem.*, 1934, **228**, 456.
5. White (P.). — *Plant Physiology*, 1934, **9**, 585-600.
6. Zimmerman (P. W.) et all. — *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 1935, **7**, 3, 209-229.
7. Bouillenne (R.). — Congrès Intern. de Botan. d'Amsterdam, 1935. (Discussions dans les C. R.).
8. Snow (R.). — *New Phytologist.*, 1935, **34**, 347-360.
9. Lazar (O.). — *Mém. Soc. Roy. Sci.*, Liège, 4e sér., 1935, **1** (23), 1-54.
10. Delarge (L.). — *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique*, 1936, **69** (1), 28.
11. Cooper (W. C.). — *Plant Physiology*, 1936, **11**, 779-793.
12. Bouillenne (R.). — *Bull. Soc. Roy. Sci.*, Liège, 1937, **2**, 335-344 ; aussi Etudes et Recherches sur les Phytohormones, 1re Réunion Internationale de Coopér. Intellect. Paris, 1er et 2 octobre 1937.
13. Bouillenne (R.) et Bouillenne (M.). — *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique*, 1938, **71** (1), 43-67.

14. Bonner (J.). — *Amer. Journ. Bot.*, 1938, **25**, 543-549.
15. Went (F. H.). — *Plant Physiology*, 1938, **13** (1), 55-81.
16. Graft (A. S.). — *Plant Physiology*, 1938, **13**, 791-814.
17. Palmquist (F.). — *Amer. Journ. Bot.*, 1938, **25** (2), 97-106.
18. Neil Stuart. — *Bot. Gaz.*, 1938, **100** (2), 298-352.
19. Bouillenne. — Congrès Assoc. Franç. Avanc. Sci., Liège, 1939.
20. Voss (H.). — *Planta*, 1939, **30** (2), 252-285.
21. Moureau (J.). — *Bull. Soc. Roy. Sci.*, Liège, 1939, **12**, 562-571.
22. Delarge (L.). — *Bull. Soc. Roy. Sci.*, Liège, 1939, **6-7**, 398-416.
23. White (P.). — *Amer. Journ. Bot.*, 1939, **26**, 59-64.
24. White (P.). — *Plant Physiology*, 1939, **14**, 527-538.
25. Van Overbeek (J.). — *Bot. Gaz.*, 1939, **101**, 450-456.
26. Weintraub. — *Smithsonian Rep.*, 1940, 357-368.
27. Delarge (L.). — *Mém. Soc. Roy. Sci.*, Liège, 1941, 2e sér. (5) (Mémoire posthume).
28. Tatum (L.) et Haagen-Smit. — *Journ. Biol. Chem.*, 1941, **140** (2), 575-580.
29. Albaum et Commoner. — *Biol. Bull.*, 1941, **80**, 314-323.
30. Commoner et Thimann. — *Journ. Gén. Phys*, 1941, **24**, 279-296.
31. Commoner et Mazia. — *Plant Physiology.*, 1942, **17** (4), 684.
32. Avery. — *Science*, 1943, **98** (2551), 454-455 ; *Collecting Net.*, 1946, **16**, 3.
33. Gautheret (R.). — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, **24**, 13-47.
34. Gautheret (R.). — Recherches sur la polarité des tissus végétaux, Paris, Masson, 1944.
35. Skoog (F.). — *Amer. Journ. Bot.*, 1944, **31** (1), 19-24.
36. Went (F. H.). — *Bot. Review*, 1945, **11** (9), 487-497.
37. Willam (A.). — Publ. Inst. Belge pour Amélioration Betterave, 1945, **5**, 255-256.
38. Bouillenne (R.). — Proc. 6th Congr. Intern. Exper. Cytol., 1947, 591-596.
39. Bouillenne (R.) et Bouillenne (M.). — *Bull. Acad. Roy. Belgique*, 1947, Cl. Sci., 5e sér., **33**, 870-884.
40. Bouillenne (R.) et Bouillenne (M.). — *Bull. Acad. Roy. Belgique*, 1947, Cl. Sci., 5e sér., **33**, 790-806.
41. Bouillenne (R.) et Bouillenne (M.). — *Lejeunia*, Revue de Botanique, 1947, **11** (2).
42. Sironval (C.). — *Lejeunia*, Revue de Botanique, 1947, **11** (2), 45-54.
43. Noel (R.). — *Lejeunia*, Revue de Botanique, 1947, **11** (2), 37-43.
44. Wardlaw. — *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, 1947, sér. B, **232**, 343.

---

## Discussion sur la Communication de M. BOUILLENNE.

M. Wolff.

Nous pouvions nous demander, au début de ce colloque, si nous trouverions un terrain de discussions communes entre les embryologistes du monde animal et du monde végétal. Après le magnifique et si intéressant exposé de M. Bouillenne, je suis sûr qu'un pont est jeté entre les deux domaines et que nous parlons le même langage. J'ai été particulièrement frappé par les points communs que nous pouvons relever dans la marche de la différenciation. Nous nous trouvons en présence d'un caractère bien « déterminé », comme nous disons en embryologie animale : M. Bouillenne nous a dit en effet qu'un méristème de racine, une fois constitué, ne donne pas de tige et réciproquement qu'un méristème de tige ne donne pas de racine. Voici donc deux différenciations nettement tranchées qui évoluent chacune suivant une orientation propre. Or la différenciation des racines à partir d'éléments indifférenciés de l'hypocotyle fait intervenir deux facteurs : un inducteur non spécifique et un élément réactionnel spécifique.

1) L'inducteur est une substance émise par les cotylédons ou par une feuille greffée. Il agit à distance sur un tissu qu'il induit à former un organe différent de celui dont il provient. Il n'est pas spécifique, puisqu'une feuille d'une autre espèce

ou un extrait de graine peut suppléer cette action. Telles sont les propriétés des organisateurs chez les animaux.

2) Cette substance agit sur un élément réacteur encore indifférencié ou peu différencié, le péricycle, qui réagit suivant ses potentialités propres. C'est lui qui, suivant la terminologie usuelle en embryologie animale, est « compétent ». C'est lui qui fait la différenciation spécifique. C'est le cas de l'ectoderme du Triton, qui se transforme en tissu nerveux sous l'action de « l'organisateur », de l'épiderme qui se différencie en cristallin sous l'influence de la vésicule optique, des « territoires de régénération » des Urodèles sous l'action non spécifique d'un nerf, etc.

3) Pour compléter l'analogie, nous voyons l'hypocotyle entier manifester des potentialités rhizogènes limitées : il ne donne qu'un nombre défini de racines dans des conditions précises. Si on le fragmente en petits tronçons, le nombre total de racines donné par les morceaux est 4 ou 5 fois supérieur à celui qu'aurait donné l'hypocotyle entier. Il y a là un pouvoir de régulation, que nous observons dans le règne animal chez de nombreux œufs (œuf d'Oursin, blastoderme d'Oiseau) en vertu duquel un fragment manifeste des potentialités beaucoup plus étendues qu'il n'en aurait montrées en connexion avec l'ensemble. L'isolement « libère » des propriétés morphogènes latentes.

Il y a lieu d'être frappé par la remarquable homologie qui ressort des travaux de M. Bouillenne entre les organes embryonnaires des végétaux et les ébauches animales. J'ajouterai toutefois, en ce qui concerne l'élément mobile ou inducteur, que les recherches de biologie végétale paraissent plus avancées : car si vous n'avez pas encore déterminé la nature de la « rhizocaline » vous connaissez des éléments qui en favorisent et complètent l'action, tels que les sucres et l'hétéroauxine.

M. Bouillenne.

Il est remarquable de constater que M. Wolff ait pu saisir si clairement l'essentiel d'un exposé purement botanique, exposé qu'il vient d'entendre pour la première fois et de le transposer dans les concepts et les problèmes de l'embryologie végétale.

Je le remercie bien vivement d'avoir ainsi marqué l'existence des points communs que nous relevons dans la marche de la différenciation et qui, j'en suis convaincu, vont aider les recherches dans le monde végétal.

M. Skoog.

1) I have followed the work of Professor Bouillenne for a number of years and am very much interested in his presentation to-day. Clearly Professor Bouillenne has been able to establish that auxin is not always the limiting factor of root formation and he has presented evidences indicating the presence of another factor. As I understand him, this factor may be derived from leaves and exerts its effect in specific cells and he considers it to be truly a root forming substance. Similar evidence has been presented by van Overbeck and coworkers ; they, however, found the limiting factor was not specific, but on the contrary, root formation under their conditions could be obtained by the application of various nitrogenous compounds some of which (both organic and unorganic) were able to cause te same total number of roots and root primordials be formed as could be obtained in the presence of leaves. It appears, therefore, that substances were required for growth rather than specifically for root formation. Evidence for the need of nitrogenous compounds has also been presented by Pontasse and Thimann. I would like to ask Professor Bouillenne in what ways his evidence differs from that of the other workers and how in view of their results he can distinguish between factors for growth and factors required specifically for the initiation of an organ such as a root?

2) Professor Bouillenne has discussed the work of Cooper suggesting the basipetal transport of a root forming substance other than auxin. However, Cooper's experiments in which retrestments with auxin were made after the basal portions were removed were not adequately controlled because he did not include control cuttings with basal portions removed. C. L. Schneider and I have repeated his work in a series of experiments with the use of several thousand *Tradescantia* internode cuttings. We could repeat his results, but the effect was entirely due to the failure of removing the basal portion of the contest cuttings. When this was

done there was no evidence in our experiments for the localization of rhizocaline in the basal parts of the cuttings.

M. Bouillenne.

Je remercie M. Skoog de son intéressante intervention et je voudrais tout de suite répondre à sa question principale qui est : Quelle est la distinction entre facteur de croissance et facteur de rhizogenèse proprement dite.

Ce point de vue nous a toujours, et dès le début, préoccupé ; car il s'agit réellement, dans le problème de la rhizogenèse, de faire la part entre les facteurs qui agissent sur la croissance des racines lorsqu'elles ont été initiées et ceux qui agissent sur la quantité de racines pouvant se constituer *de novo* — qu'elles poussent ou ne poussent pas —.

Elles poussent si le milieu nutritif ne révèle pas d'éléments limitants.

Nous avons déjà établi en collaboration avec Mme Bouillenne, en 1938, un milieu nutritif qui permet la croissance continue pendant des mois de racines néoformées (milieu contenant sucres, matières azotées, vitamines, auxines, oligo-éléments).

Mais le *nombre* de racines n'est pas sous la dépendance du milieu nutritif ; car il reste le même si l'expérience se fait en l'absence de milieu nutritif complet (nous avons cependant montré en 1933 qu'il faut un minimum de glucides) à condition toutefois que la numération ne se limite pas aux racines visibles extérieurement mais que soient comptés les primordia radiculaires au moyen d'un examen microscopique approfondi. En effet, ces primordia ne poussent pas en milieu pauvre mais croissent peu à peu en milieu nutritif approprié. Noel, en 1948, a montré que si, au départ, le nombre des racines visibles est plus petit que le nombre total des racines néoformées, en fin d'expériences en milieu nutritif, il y a identité numérique.

Ainsi donc le choc physiologique qui déclanche le départ de la néoformation radiculaire est brusque et provoque un nombre déterminé de racines ; nombre qui est indépendant du milieu nutritif et qui est sous le contrôle de facteurs spécifiques complexes dont l'existence n'est plus à démontrer.

En ce qui concerne les expériences de Cooper dont la conclusion est contestée par suite, selon M. Skoog, de l'absence d'un témoin correct, je dois dire que, dès 1938, nous avons montré que des hypocotyles de Balsamine adultes, non inanitiés, donnaient les mêmes résultats que Cooper par rapport à des témoins coupés exactement comme les hypocotyles traités.

M. White.

En ce qui concerne le problème de la polarité, je veux attirer l'attention sur les études de l'Ecole de Lund (Texas) qui ont démontré l'existence de polarités électriques très prononcées dans les plantes non fragmentées, polarités qui dépendent des conditions respiratoires qui peuvent être inversées par l'application soit d'hydrogène, soit d'oxygène et par l'action desquels on peut déterminer la région de production des racines ou des bourgeons.

M. Bouillenne.

Je suis d'accord avec M. White au sujet de l'existence de polarités électriques très prononcées dans les plantes entières, mais les causes physiologiques qui les provoquent naturellement ou les modifient expérimentalement ne sont pas en question ici. Il s'agit de polarité de transport.

Je pense que des aspects de polarité dans la circulation de certains corps comme les auxines, le précurseur de la rhizocaline, etc., sont dus principalement au fait que les plantes sont coupées et que leur circulation normale est interrompue.

D'ailleurs, les belles expériences de M. Went sur boutures inversées de *Tagetes* confirment ce point de vue ; puisque dans les boutures inversées, la polarité primitive est détruite dès que de nouvelles racines apparaissent et qu'un système circulatoire nouveau peut s'installer.

J'insiste donc sur la différence entre les problèmes liés à la polarité de transport et ceux qui ressortissent de la polarité organique.

M. Plantefol.

Je pense ne pas éloigner la discussion de son domaine en soulignant l'importance que peuvent avoir dans un sujet comme celui-ci les études de metabolisme respiratoire. Il est très frappant de voir l'opposition entre les réactions des hypocotyles inanitiés et celles des hypocotyles normaux. Il est certain que le métabolisme respiratoire ne peut pas être semblable, soit en intensité, soit en quotient, dans ces deux matériels. Sans doute a-t-on dans l'inanition une phase de dégradation glucidique, puis une phase protidique que peut seulement mettre en évidence une étude très précise du quotient respiratoire. La considération simultanée des conditions de quotient et d'intensité dans les deux types de matériel peut apporter une aide aux remarquables recherches du Professeur Bouillenne. Il faut savoir s'il y a espoir de quelque trouvaille dans cette voie. Peut-être cette étude pourrait-elle fournir des suggestions sur la nature de produits de dégradation mis en jeu.

M. Bouillenne.

J'apprécie beaucoup l'intervention très intéressante de M. le Professeur Plantefol. Ce qui permet de différencier, dans la rhizogénèse, le précurseur mobile venant des feuilles ou des réserves de la graine, de la rhizocaline fixée dans les cellules de certains tissus est la différence qui existe entre le comportement d'un hypocotyle inanitié et celui d'un hypocotyle normal non inanitié.

Par conséquent, comme il le dit, il est de toute première importance de connaître le régime du métabolisme respiratoire dans ces deux cas. Un de nos collaborateurs (le Dr H. Welsch) a déjà entrepris l'étude minutieuse des phénomenes de translocation de l'eau, de la matière sèche, de l'azote dans les hypocotyles normaux et amputés de leurs cotylédons.

Mais nous n'avons pas encore de données sur les échanges respiratoires. C'est une recherche que nous nous proposons de faire prochainement.

M. David.

La récente réalisation du bouturage du Pin maritime confirme l'hypothèse de l'existence d'une rhizocaline, facteur spécifique de la formation des racines.

Il est impossible de bouturer le Pin maritime avec les techniques habituelles. Toutes les hétéroauxines qui ont été essayées sont incapables de provoquer la formation des racines. L'auxine ne paraît donc pas être le facteur spécifique de la formation des racines.

J'ai décrit récemment une technique qui permet de réaliser tout de même le bouturage de cette espèce. On effectue une décortication annulaire à la base de la pousse de l'année. On enduit ensuite la blessure avec une pâte de lanoline contenant de l'acide indol-β acétique qui provoque la formation d'un cal se développant de part et d'autre de la région décortiquée, mais d'une manière plus considérable à la partie supérieure, c'est-à-dire à la base du rameau destiné à être bouturé. Dans ces conditions, les substances circulant dans le sens « racines-bourgeon terminal » continuent à arriver dans les feuilles du rameau destiné à être bouturé, mais la circulation de la sève élaborée est interrompue par la décortication et le rameau s'enrichit en substances plastiques et probablement aussi en substances oligodynamiques.

Lorsque le cal de cicatrisation est formé, le rameau est sectionné au niveau de la décortication et placé en serre, la base dans du sable maintenu humide. Un système d'arrosage automatique pulvérise régulièrement de l'eau toutes les 40 minutes sur les rameaux. Enfin ces derniers reçoivent *un éclairage d'appoint pendant la nuit (à l'aide de tubes lumineux)*, ce qui accroît l'enrichissement de la bouture en produits du métabolisme. Dans ces conditions, une ou deux racines très épaisses prennent naissance à la base du rameau *sur le bourrelet de cicatrisation*. Ces racines se ramifient ultérieurement.

En résumé, j'ai constaté que :

1° Les hétéroauxines ne provoquent pas l'enracinement des rameaux non enrichis et ne présentant pas de bourrelet. Les hétéroauxines ne sont donc pas des substances rhizogènes.

2° Le rameau enrichi en produits du métabolisme ne donne des racines que lorsqu'il est exposé à une illumination continue. La lumière joue donc un rôle certain dans la formation de la véritable substance rhizogène.

3° Les racines se forment uniquement sur le cal. Certaines cellules de ce dernier possèdent donc un facteur spécial qui, en présence de l'auxine et de la substance rhizogène mobile provenant des feuilles, fixe cette dernière et provoque, à partir des cellules où se produit cette réaction, la formation de méristemes radiculaires.

Ces observations paraissent donc bien confirmer la thèse du Professeur BOUILLENNE suivant laquelle la formation des racines nécessite la présence de trois facteurs au moins : un facteur rhizogène mobile formé par les feuilles à la lumière (rhizocaline), une auxine, un enzyme.

M. BOUILLENNE.

Je remercie M. le Professeur DAVID de son exposé, et je le félicite du succès qu'il a obtenu Ce succès est appréciable, car nous avons essayé d'obtenir des racines sur des boutures de *Pinus maritimus*. Une expérience a été réalisée cette année à Liège avec 3.000 boutures traitées par diverses substances en diverses concentrations pendant divers temps de trempage. Ce fut un échec total. J'ajouterai que dans cet essai, le facteur nutritif n'était pas limitant, car les boutures étaient arrosées 2 à 3 fois par jour avec un milieu nutritif complet dont nous avons publié la formule et qui contient, outre le sucre et les oligo-éléments minéraux, des vitamines ($B_1$, $B_6$, C), ac. nicotinique, ac. pantothénique, sulfate d'adénine, glycocolle et α alanine.

Ces boutures se sont maintenues en vie pendant plus de 5 mois (février, mars, avril, mai, juin) sans qu'une seule racine apparaisse.

Nous n'avons pas donné de lumière d'appoint qui a probablement permis à M. DAVID de réussir.

D'un autre côté, certaines variétés de Houx se sont montrées incapables de produire des racines bien que les boutures aient été maintenues en très bonne santé en serre depuis plus d'*un an*, quelle que soit l'hormone d'application utilisée — alors que les variétés ordinaires de Houx sont bouturées par Mme M. BOUILLENNE en *25 jours* avec ou sans l'aide d'hormone d'application.

Il apparaît clairement de toutes ces expériences qu'il existe un facteur autre que les auxines et les métabolites ordinaires, facteur élaboré à la lumière.

M. SCHOPFER.

1) Les belles expériences de M. BOUILLENNE démontrent la nécessité d'admettre l'existence d'un facteur rhizogène encore inconnu, agissant avec les auxines ; ces dernières n'étant pas le facteur rhizogène spécifique. Il se pose une première question : pourquoi le synergisme « précurseur mobile + acide indol-acétique » ne se manifeste-t-il que dans un groupe de cellules définies, aptes (ou prédéterminées) ainsi à donner naissance à une racine ? Toute l'attention se porte sur le précurseur formé dans les feuilles, à la lumière. Devant circuler, ce précurseur mobile ne peut pas être macromoléculaire.

Je serais tenté d'invoquer la fonction possible de l'acide indol-acétique comme coenzyme et de proposer le schéma hypothétique suivant :

précurseur mobile
|
ac. indol-acétique + support → catalyse (dans des cellules déterminées)
↓
*substance rhizogène spécifique*

Existe-t-il des faits parlant en faveur de cette hypothèse ? La notion du précurseur rend de grands services dans l'étude de tels phénomènes et permet d'amorcer celle des *chaînes de réactions* qui, certainement, existent ici.

2) Les plantules et les cultures de racines — nous l'avons démontré — peuvent être le siège de réactions métabolite-antimétabolite (vitamines-antivitamines). Peut-on trouver une antihétéroauxine permettant d'éliminer *specifiquement* l'action de l'hétéroauxine ? Cela permettrait des expériences décisives.

3) De toutes façons, l'attention se concentre sur la feuille dont on doit pouvoir extraire et concentrer le précurseur supposé. Ce but étant atteint, toutes les vérifications sont possibles.

M. Bouillenne.

1) Le schéma que propose M. le Professeur Schopfer rend exactement compte de notre façon de voir, et le fait qu'il le formule nous donne à penser que cette hypothèse s'inscrit parfaitement dans le cadre des idées et travaux sur la biochimie de la morphogénèse.

En ce qui concerne le rôle des auxines, nous avons proposé en 1947, au 6e Congrès international de cytologie expérimentale à Stockholm, que les auxines agissent à la manière de coenzyme pour un certain nombre de réactions déterminées par des enzymes spécifiques qui seraient localisées dans certaines cellules.

D'autre part, nous pensons que l'on ne peut échapper à l'hypothèse tripartite de la réaction rhizogénique, car :

1° les feuilles interviennent qualitativement et quantitativement dans la réaction rhizogénique par une action substantielle mobile;

2° le rôle des auxines a été démontré expérimentalement. Il ne peut être celui d'un enzyme spécifique, car elles peuvent être remplacées par des corps de synthèse, comme c'est le cas pour d'autres phénomènes (division cellulaire, allongement, formation d'organes, de cals, etc.). Il est logique d'admettre leur rôle de coenzyme;

3° la naissance des racines est toujours observée à partir de cellules particulières, comme celles des péricycles, cambium, etc.

La réaction de fixation du précurseur mobile se complète donc nécessairement d'un phénomène de localisation. Ces trois points nous paraissent objectivement démontrés. Où l'hypothèse intervient, c'est dans la question de la nature du facteur de localisation qui, selon nous, serait d'origine enzymatique.

Nous n'avons pas encore d'information à ce sujet.

De plus, nous pensons que ce facteur cellulaire serait génétique et subirait les lois de la dominance ainsi que ce fut démontré par Mme M. Bouillenne sur diverses variétés de Houx pour les racines et par P. Prévot sur les hybrides de *Begonia Rex* en 1939, pour les bourgeons où il fonctionne aussi comme facteur dominant.

2) A ma connaissance, on n'a pas encore trouvé d'anti-auxine comme on l'a fait pour les vitamines.

3) Nous pensons, comme M. Schopfer, que le travail actuel doit consister à extraire et à concentrer le précurseur mobile venant des feuilles. Après avoir consacré beaucoup d'efforts à montrer que les auxines ne sont pas les seuls facteurs spécifiques de la rhizogénèse, plusieurs laboratoires ont essayé d'isoler le précurseur, mais n'y ont pas encore réussi à notre connaissance.

M. Gautheret.

Il est certain que la possession d'un facteur anti-auxine spécifique présenterait un immense intérêt. L'acide indole acrylique auquel fait allusion le Professeur Schopfer semble antagoniste du tryptophane lorsque les expériences sont de faible durée comme c'est le cas pour certains microorganismes. Mais il n'en est pas de même pour les cultures de tissus dont la croissance est lente. J'ai au contraire observé avec M. Raoul une synergie entre l'acide indole acrylique et le tryptophane.

Peut-être les cultures de racines dont la croissance est rapide permettraient de déceler cet antagonisme.

En tous cas la découverte d'une anti-auxine renouerait entièrement le problème de la morphogénèse.

M. Schopfer.

Il est exact que ces phénomènes « métabolites anti-métabolites » sont faciles à mettre en évidence chez les microorganismes à croissance rapide. Pourtant nous les avons observés chez des microorganismes dont la durée de croissance est de 1 à 3 semaines. On peut les observer également avec des plantules ou des cultures de racine (durée 3-5 semaines). Une culture de tissu, étant donné sa longue durée, ne me semble pas un matériel favorable à cette étude.

Il arrive fréquemment qu'un *anti-métabolite* agisse en synergisme avec un méta-

bolite. avant de contrarier l'action de ce dernier ($B_1$-anti-$B_1$ ; PAB-sulfamidé). C'est une question de concentration.

Je reste persuadé que la découverte d'une anti-auxine spécifique déterminerait des progrès considérables (anti-auxine agissant soit par compétition, soit par antagonisme physiologique) ; je rappelle les phénomènes observés avec l'acide parascorbique.

M. GAUTHERET.

Le remarquable exposé de M. le Professeur BOUILLENNE me suggère 3 réflexions :

1) La substance rhizogène hypothétique n'est certainement pas soluble directement dans l'eau et ne peut diffuser par voie humorale. Cette particularité amène à la rapprocher des hypothétiques hormones de floraison. Ne peut-on imaginer comme MELCHIERS l'a fait à propos de ces dernières que la rhizocaline serait une substance corpusculaire ne pouvant être transmise que par les communications intercellulaires ?

Ne peut-on aussi imaginer que la rhizocaline serait un facteur liposoluble dont la mise en évidence exigerait des techniques différentes de celles utilisées couramment pour les hormones ?

2) L'expérience cruciale du Professeur BOUILLENNE consiste à montrer qu'un hypocotyle épuisé en rhizocaline mobile par l'action d'hétéroauxine peut encore fournir des racines si on le sectionne en fragments. J'aimerais savoir ce qui arriverait si l'on greffait une feuille sur un hypocotyle ainsi épuisé. Aurait-on une accumulation dans celui-ci de rhizocaline mobile seule. ou en outre de rhizocaline fixée ? Quel que soit le résultat d'une telle expérience, je pense qu'il fournirait des indications nouvelles sur cette notion de rhizocaline fixe et mobile.

M. BOUILLENNE.

1) Je remercie le Professeur GAUTHERET de ses considérations intéressantes.

En ce qui concerne la première, il est clair que la substance rhizogène hypothétique, dans *sa forme fixée*, n'est pas soluble dans l'eau et ne diffuse pas dans les circonstances normales de la vie. Elle doit selon nous être considérée comme un constituant cellulaire que l'on ne peut extraire ni doser comme tel. C'est de ce fait que proviennent la plupart des difficultés rencontrées jusqu'à présent dans la connaissance de ce complexe.

Mais nous avons constaté au cours de certaines expériences qu'il pouvait se produire un déplacement du potentiel rhizogénique. Nous ne savons pas encore s'il s'agit là d'un changement dans certains facteurs accessoires qui deviennent défavorables ou favorables, ou d'un transport de rhizocaline antérieurement fixée. Dans ce dernier cas, la manière dont le transport serait réalisé nous est inconnue. Dans les expériences que nous avons réalisées et auxquelles je fais allusion, il a été observé en même temps une mobilisation générale des protéines. Dans ces conditions nous avons émis l'hypothèse que la rhizocaline fixée pourrait subir aussi une décomposition enzymatique et se reconstituer à d'autres niveaux.

En ce qui concerne le précurseur de la rhizocaline qui est élaboré dans les feuilles ou mis en réserve, il apparaît bien que sa mobilisation est aisée dans les plantes et qu'il doit pouvoir diffuser par voie humorale.

2) La suggestion de réaliser une greffe de feuille sur un hypocotyle inanitié ou épuisé en précurseur mobile par l'action des auxines me paraît devoir donner des résultats intéressants et je me propose de la réaliser.

Nous avons déjà réalisé des greffes sur hypocotyles de *Impatiens Balsamina* inanitiés ou non inanitiés en utilisant des sommets d'hypocotyles munis de cotylédons et malgré quelques difficultés techniques nous avons réussi. Le résultat a été que les produits diffusant des cotylédons ne passent pas le niveau de la greffe et que de nombreuses racines nouvelles apparaissent au-dessus de ce niveau.

M. MARESQUELLE.

Plusieurs idées émises tant au cours de l'exposé de M. SCHOPFER qu'à l'occasion des réflexions de M. GAUTHERET sur l'exposé de M. BOUILLENNE attirent notre atten-

tion sur divers aspects des transports de substances actives dans la plante. On es amené à distinguer deux cas :

1) Transports par diffusion (polarisée ou non), n'exigeant pas la continuité de la structure organisée ; possibles seulement pour des molécules assez petites.

2) Transports de grandes molécules semblant requérir des forces plus actives que la diffusion, tout spécialement exigeants au point de vue de la continuité de structure (cas des circulations de virus, vraisemblable aussi pour l'idée emise par M. GAUTHERET à la suite de M. MELCHIERS concernant la nature et les conditions de transport de la substance anthogène). Ce dernier phénomène est sans doute en rapport avec le problème toujours très obscur du mécanisme de la circulation libérienne.

*Le Gérant :* L. BERLAND
Secrétaire général.

DÉPÔT LÉGAL : 1950, 4e TRIMESTRE, N° D'ORDRE 1.
BARNÉOUD FRÈRES ET Cie, IMPRIMEURS (31.0566). LAVAL. N° 2281. 12 1950.

Extrait de **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1948, pp. 75-852.

# CONSIDÉRATIONS SCIENTIFIQUES

sur

# LA RHIZOGENÈSE CHEZ LES HOUX

par

**R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND**

En décembre 1947, à la séance de la Société Botanique de Liège, nous avons exposé comment de 1933 à 1947 les expériences réalisées par nous et nos collaborateurs nous ont amenés à l'actuelle théorie de la RHIZOCALINE, formulée pour la première fois au Séminaire de Biologie végétale de Liège, **en octobre 1945,** ensuite aux Etats-Unis en **juin 1946,** et au Congrès de Stockholm en **juin 1947. (1)** L'exposé et la discussion de cette théorie ont été faits à l'Académie des Sciences en 1947 **(2)** et dans la revue Lejeunia. **(3)**

Cette théorie tient compte de ce que trois facteurs au moins sont nécessaires à la différenciation radiculaire :

1) Un facteur spécifique mobile, venant des feuilles ;
2) Un second facteur mobile, les auxines ;
3) Un facteur cellulaire existant génétiquement dans les cellules de certains tissus depuis leur formation à partir des divisions embryonnaires, méristématiques ou cambiales.

Le potentiel rhizogénique d'un tissu est déterminé par la présence simultanée des trois facteurs dans une même cellule et correspond à une réaction de fixation.

Cette réaction de fixation est localisée dans certains tissus à partir desquels, comme on sait, les racines se forment généralement. Nous avons postulé que le facteur cellulaire est de nature enzymatique : c'est lui qui, distribué dans certaines cellules, y contrôle la réaction de fixation des facteurs mobiles. Il s'agirait donc d'une réaction métabolique due à un enzyme spécifique et localisé. La rhizocaline et les auxines y interviennent, ces dernières vraisemblablement à titre de co-enzymes. Il en résulterait un complexe au moins trivalent qui correspondrait à ce que nous appelons : rhizocaline fixée.

La communication que nous présentons aujourd'hui apporte une nouvelle preuve expérimentale absolument claire que la rhizogenèse dépend, avant tout, de **facteurs biochimiques internes.**

Dans le dernier numéro paru en 1948 du Bulletin Horticole **(4)**, nous avons donné des résultats obtenus dans le bouturage des Houx.

On y voit qu'après de nombreux essais, nous avons réussi par traitement préalable aux hormones d'application, à obtenir en **25** jours, un enracinement général de boutures de Houx munies de feuilles et de fruits tandis que les témoins traités à l'eau ne donnent aucune racine, **même après 104 jours.** En effet, les témoins-eau ne font pas racines dans les conditions ordinaires d'expérimentation. Il en est de même dans les différents essais rapportés dans la littérature sur ce sujet(1).

Le Houx est considéré comme une plante difficile à enraciner.

A première vue, on serait tenté de conclure que les **produits appliqués** à la base de boutures sont les corps responsables directement de la formation radiculaire, et de les assimiler aux facteurs spécifiques de la rhizogenèse. Cependant, nous avons écrit dans le Bulletin Horticole, décembre 1948, page 358 :

« Les hormones végétales d'application fournies aujourd'hui par les usines chimiques **ne sont pas** des substances formatrices de racines ; elles sont **uniquement des substances activantes** de certaines réactions biochimiques internes et, pour être profitables, elles doivent trouver dans les boutures des conditions favorables qui sont précisément fondamentales. »

Nous avons tenu ainsi à bien marquer que ces corps sont uniquement des « révélateurs » des propriétés cellulaires impliquées dans la rhizogenèse. Ils n'ont donc qu'un rôle secondaire au point de vue scientifique, bien que prépondérant du point de vue pratique.

Rappelons brièvement cette première expérience sur les Houx :

Le 29 septembre 1948, divers lots constitués chacun de 25 branches de Houx (*Ilex aquifolium* L.) sont trempés par leur base :

Le 1er lot dans une solution d'hormones d'application à 25 mgr. 0/00 de liquide nutritif pendant six heures ;

Le 2me dans une solution à 12,5 mgr. 0/00 des mêmes hormones, pendant douze heures ;

Le 3me dans le liquide nutritif « Bouillenne » seul, pendant douze heures ;

Le 4me dans de l'eau, pendant douze heures.

Puis les boutures sont lavées et disposées par **lots** dans des couches séparées, dans une serre non chauffée. Elles sont vaporisées régulièrement dans les trois premiers lots avec du liquide nutritif ; celles du 4me lot, avec de l'eau.

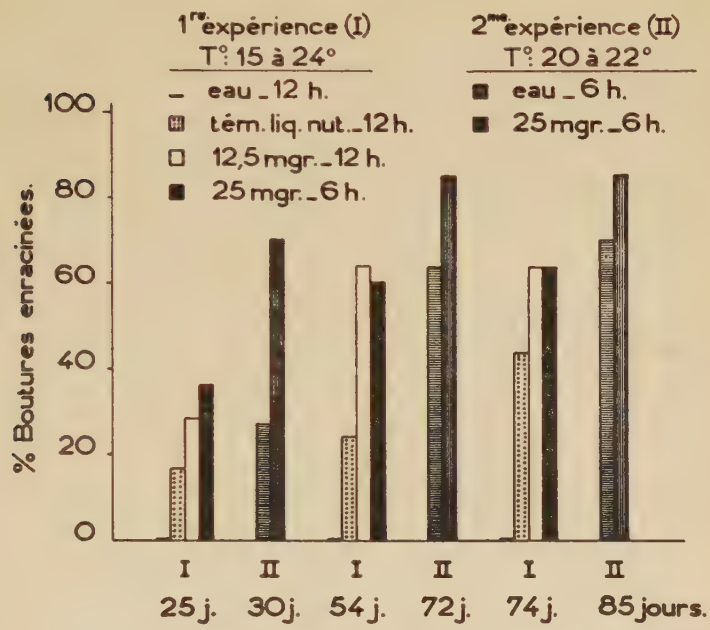
---

(1) Voir, par exemple, les photographies dans les ouvrages **(5)**, **(6)** et **(7)** de la liste bibliographique à la fin de cet article.

Le liquide nutritif employé seul est donc capable de « révéler » les capacités rhizogéniques du Houx mais beaucoup plus lentement que ne le font les hormones d'application.

Après 74 jours d'expérience, la marche de l'enracinement dans les différents lots s'établit selon le diagramme suivant :

DIAGRAMME I




Le résultat intéressant sur lequel nous désirons insister ici est que, **après 25 jours**, quatre témoins trempés dans le liquide nutritif et vaporisés à l'aide de celui-ci, montraient des racines bien formées. Celles-ci, bien entendu, ne pouvaient être comparées aux nombreuses touffes de racines apparaissant sur les boutures traitées ; 74 jours après le début de l'expérience, onze boutures sur les vingt-cinq de cette série avaient donné des racines. On voit que au 74$^{me}$ jour d'expérience l'allure des résultats obtenus pour les séries traitées n'a pas changé considérablement par rapport au 54$^{me}$ jour, tandis que la série « témoin-liquide nutritif » a continué régulièrement à augmenter le nombre de boutures enracinées et présente 44 % de boutures enracinées ; par contre, les boutures arrosées à l'eau pure n'ont fourni aucune racine et mourront d'ailleurs sans en avoir donné une seule.

Examinons plus particulièrement les lots « témoin-liquide nutritif » et « témoin-eau » à la lumière de la théorie de la rhizogenèse que nous avons proposée en 1945 :

Si notre théorie est correcte, il y a dans toutes les boutures de Houx expérimentées, même dans celles mises comme témoins dans l'eau et arrosées avec de l'eau, tout ce qu'il faut pour faire apparaître des racines.

Or, ces dernières n'ont pas fait une seule racine.

Pouvons-nous, dans un délai relativement court, mettre en évidence les facteurs rhizogéniques existants sans apporter ni hormones, ni liquide nutritif ? Le seul moyen d'action dans ce cas pour démontrer, de façon irréfutable, que la plante possède tout ce qu'il faut pour faire apparaître des racines de néoformation, sera de mettre au point des conditions de culture favorables.

L'expérience suivante répond à cette question et de façon fort claire :

Le **29 octobre 1948**, des branches de Houx venant du même arbre que celles ayant servi à l'expérience I, munies de feuilles et de fruits, sont divisées en deux lots de 80 boutures chacun ; boutures choisies aussi semblables que possible, vigoureuses et saines.

Le premier lot de boutures est placé dans l'eau pendant six heures.

Après ce temps, les boutures sont mises dans une serre sous couches fermées, dans du sable frais soigneusement lavé et n'ayant servi à aucun autre essai. Les boutures témoins sont vaporisées trois ou quatre fois par jour **avec de l'eau.**

Au moyen de thermosiphon, le sable des couches a été maintenu à une température moyenne de 20-22° C. pendant toute la durée de l'expérience ; l'humidité était maintenue au maximum par arrosages fréquents du sol de la serre. La température de la serre a varié de 18 à 30° C. Pour résoudre une question qui sera exposée plus loin, les boutures expérimentées avaient été disposées dans les couches de plusieurs manières ; certaines d'entre elles avaient été préalablement mutilées de diverses façons.

1re série : non mutilées, placées verticalement selon la technique ordinaire ;

2me série : non mutilées, placées horizontalement dans la position qu'elles avaient sur la plante mère (1).

3me série : non mutilées, placées horizontalement en position inverse.

Ensuite, sur les autres boutures, la tige est fendue à peu près sur la moitié de la partie inférieure démunie de feuilles. Une mince lame de mica est insérée dans la fente ; puis les deux bords inférieurs sont liés au raphia.

---

(1) Les branches de Houx ont, dans la nature, une disposition dorsiventrale très nette.

Les boutures ainsi mutilées sont disposées :

4me série : verticalement.

5me série : horizontalement, en position normale.

6me série : horizontalement, en position inverse.

Enfin, sur les 7me et 8me séries, respectivement une partie de la région dorsale (supérieure) et une partie de la région ventrale (inférieure) ont été enlevées, puis les boutures ont été enterrées verticalement jusqu'au-dessous de la zone mutilée.

Les boutures du 2me lot sont traitées aux hormones d'application (25 mg 0/00 de liquide nutritif) pendant six heures, puis lavées et réparties en séries semblables à celles du 1er lot.

Placées dans les mêmes conditions expérimentales, elles sont arrosées régulièrement au liquide nutritif.

Les résultats de cette simple expérience sont absolument démonstratifs : **Au 30me jour d'expérience,** il y a des racines sur les boutures des deux lots : boutures traitées et boutures « eau » :

| BOUTURES TRAITÉES | BOUTURES "EAU„ |
|---|---|
| Sur 80, 61 ont des racines; 19 n'en ont pas. | Sur 80, 20 ont des racines; 52 n'en ont pas; 8 étaient mortes accidentellement et éliminées. |

**Au 72me jour d'expérience :**

| BOUTURES TRAITÉES | BOUTURES "EAU„ |
|---|---|
| Sur 80, 68 ont des racines; 12 n'en ont pas. | Sur 72, 46 ont des racines; 26 n'en ont pas. |

**Au 85me jour d'expérience :**

| BOUTURES TRAITÉES | BOUTURES "EAU„ |
|---|---|
| Sur 80, 68 ont des racines; 12 n'en ont pas. | Sur 72, 50 ont des racines; 22 n'en ont pas. |

Le tableau ci-après enregistre les résultats obtenus dans les diverses séries traitées et non-traitées aux hormones et les photographies (Pl. 10 fig. 1 et 2, pl. 11) en donnent l'illustration. Le diagramme précédent donne l'allure du phénomène de la rhizogenèse dans cette expérience (rectangles gris, marqués du chiffre II).

**Conclusions.** — Les résultats de cette expérience nous permettent d'affirmer une fois de plus que les hormones d'application ne sont pas des déterminants mais des accélérateurs du phénomène normal de rhizogenèse.

TABLEAU I

| Début de l'expérience 29 octobre 1948 | | Résultats obtenus après: 30 jours 30 nov. 1943 | | 72 jours 12 janv. 1949 | | 85 jours 25 janv. 1949 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Traitement et position des boutures | avec racines | sans racines | avec racines | sans racines | avec racines | sans racines |
| 25 mgr. p. mille pendant 6 heures vaporisation avec liquide nutritif | placées verticalement | 6 | 2 | 6 | 2 | 6 | 2 |
| | placées horizontalem. position normale | 10 | 3 | 10 | 3 | 10 | 3 |
| | placées horizontalem. et inversées | 9 | 3 | 11 | 1 | 11 | 1 |
| | fendues, avec mica; placées verticalement | 5 | 2 | 6 | 1 | 6 | 1 |
| | fendues, avec mica; placées horizontalem. et normalement | 9 | 4 | 13 | 0 | 13 | 0 |
| | fendues, avec mica; placées horizontalem. et inversées | 10 | 4 | 10 | 4 | 10 | 4 |
| | partie dorsale (supérieure) enlevée | 3 | 0 | 3 | 0 | 3 | 0 |
| | partie ventrale (inférieure) enlevée | 9 | 1 | 9 | 1 | 9 | 1 |
| | Sur 80 boutures p.c. d'enracinements | 61 | 19 70,6 p.c. | 68 | 12 85 p.c. | 68 | 12 85 p.c. |
| Eau pendant 6 heures vaporisation avec eau | placées verticalement | 2 | 8 | 6 | 4 | 6 | 4 |
| | placées horizontalem. et normalement | 6 | 13 | 11 | 6 | 14 | 3 |
| | placées horizontalem. et inversées | 0 | 10 | 6 | 4 | 6 | 4 |
| | fendues, avec mica; placées horizontalem. et normalement | 3 | 6 | 6 | 3 | 7 | 2 |
| | fendues, avec mica; placées horizontalem. et inversées | 4 | 12 | 9 | 7 | 9 | 7 |
| | partie dorsale (supérieure) enlevée | 1 | 2 | 3 | 0 | 3 | 0 |
| | partie ventrale (inférieure) enlevée | 4 | 1 | 5 | 0 | 5 | 0 |
| | Sur 72 boutures p.c. d'enracinements | 20 | 52 27,7 p.c. | 46 | 26 63,9 p.c. | 50 | 22 70 p.c. |

Les différences de conditions expérimentales entre cette expérience et la précédente rappelée plus haut ont été :

1) Boutures prélevées un mois plus tard sur les mêmes arbres ;

2) Température constante maintenue dans le sable des couches (22-24° C.).

3) Température moyenne plus élevée de la serre ;
4) Humidité maximum entretenue sur les boutures et autour d'elles ;
5) Mutilations et positions systématiquement repérées des boutures à l'intérieur des couches.

Si l'on superpose, comme nous l'avons fait dans le diagramme, les courbes des enracinements dans les deux expériences dont il est parlé ici, on peut se rendre compte de l'importance de ces facteurs sur le phénomène de la rhizogenèse et de la nécessité absolue, pour des essais de ce genre, de pouvoir préciser avec exactitude les conditions du milieu extérieur ; car celles-ci, à elles seules, ont permis aux boutures « eau » de la deuxième expérience de produire à peu près autant de racines que les boutures traitées de la première expérience, mais en un temps plus long.

Il ne faudra donc pas, à l'occasion du bouturage des Houx, reprendre d'anciennes erreurs et croire que les Hormones d'application sont des **agents spécifiques** de la rhizogenèse.

Nous considérons cette expérience comme très importante pour l'étude des problèmes de la rhizogenèse, car elle démontre que les hormones d'application n'ont pas dans le phénomène interne de la rhizogenèse un rôle plus essentiel que celui des facteurs externes (température, humidité, etc.) dont l'adaptation optimum aux exigences du végétal permet ou déclenche la chaîne des réactions qui conduisent à l'apparition des racines.

Un autre fait démontre aussi très bien que la rhizogenèse dépend avant tout de facteurs internes. Nous avons répété ces diverses expériences de bouturage par hormones d'application sur deux variétés panachées de Houx : *Ilex aquifolium* L. var. horticole *aurea-marginata*, *Ilex aquifolium* L. var. *argentea-marginata*, et pour cette dernière, deux arbres ont été expérimentés. L'un provient du Jardin Botanique de Liège, l'autre d'une propriété des environs de la ville.

La première variété *aurea-marginata* répond comme le Houx ordinaire, dans les conditions habituelles d'expérience ; 25 jours après le traitement, les racines apparaissent.

Pour la seconde variété *argentea-marginata*, les résultats sont absolument contradictoires : la variété argentée du Jardin Botanique, qui n'a d'ailleurs jamais fructifié, est absolument réfractaire à tout enracinement. Nous n'avons pas obtenu une seule racine sur des boutures que nous avons maintenues en vie pendant près d'un an, grâce au liquide nutritif. Par contre, l'arbre en provenance des environs de Liège donne des boutures qui s'enracinent normalement après 25 jours dans les conditions de traitement déjà citées.

Il manque donc aux boutures de la variété argentée la possibilité de réaliser un ou plusieurs chaînons de la série réactionnelle essentielle à l'apparition des racines, à tout le moins, aux différents moments, où nous avons prélevé des rameaux et dans les conditions de culture utilisées.

Van Overbeek et Gregory **(8)** ont constaté un fait un peu analogue avec deux variétés d'*Hibiscus*, l'un à fleurs rouges qui donne des boutures s'enracinant facilement, l'autre à fleurs blanches qui ne permet aucun enracinement, sauf si on y greffe un rameau muni de feuilles de la variété à fleurs rouges, ou si l'on donne aux boutures, dans le milieu nutritif, des aliments azotés comme l'arginine.

A notre avis, des expériences comme celles rapportées ici, ou celles de Van Overbeek **(8)** ou celles de Skoog **(9)** avec l'adénine sur culture des tissus, n'ajoutent aucun éclaircissement au véritable problème de la rhizogenèse qui est de découvrir, dans toute la chaîne des réactions métaboliques du végétal, le ou les radicaux essentiels au départ de la première réaction rhizogénique.

Rappelons ici que, à partir de 1938, nous avons clairement montré que des root-test de Balsamine qui ne font apparaître aucune racine si on les cultive dans l'eau pure, en produisent un certain nombre si on les plonge dans l'eau sucrée (à 2 %), que ce nombre augmente considérablement si on ajoute au sucre des acides aminés glycine et α-alanine, mais que dans **tous ces cas**, l'action des matières sucrées ou azotées se réduit à une régulation de la multiplication cellulaire sur des tissus où la première réaction de la rhizogenèse dans certaines cellules avait eu lieu déjà avant l'inanition des hypocotyles.

Nous avons montré que le complexe rhizocalinique était fixé dans certaines cellules du péricycle, tout le long des hypocotyles inanitiés.

Le jeu ultérieur des conditions expérimentales : nature et concentrations des substances alimentaires, humidité, température, etc... permet ou non à ces cellules « marquées » de révéler leur évolution normale en racine.

L'un de nos collaborateurs (1) a d'ailleurs pu mettre en évidence, par coloration sélective, des groupes cellulaires qui ne diffèrent pas morphologiquement des cellules avoisinantes mais qui sont cependant déjà des initiales de racines et sur lesquelles l'action des substances de croissance sera selon les concentrations, ou bien une accélération des phénomènes de mitoses suivie de la différenciation organique, ou bien, si la concentration est trop forte, une accélération mitotique avec blocage des phénomènes ultérieurs : élongation et différenciation.

Le problème qui se pose aujourd'hui n'est plus de déterminer (sauf pour un intérêt pratique) les influences saisonnières (qui en dernière analyse déri-

(1) R. Noel. — travail inédit.

vent des facteurs extérieurs), l'action plus ou moins activatrice ou révélatrice, mais non spécifique, des substances de croissance naturelles ou synthétiques, des matières nutritives minérales ou organiques, mais bien de chercher quel est le facteur (ou le radical) synthétisé normalement dans les feuilles à la lumière qui est métabolisé et fixé dans certaines cellules, lesquelles, dès ce moment, peuvent devenir des initiales de racines.

* * *

La deuxième expérience réalisée sur les Houx nous a donné l'occasion de préciser un point particulier concernant l'endroit où les racines de néoformation apparaissent sur les boutures.

Tandis que nous étions occupés à prendre les photos qui ont paru dans le Bulletin Horticole, M. le Professeur Monoyer nous fit remarquer que les racines étaient **toutes** apparues sur la face ventrale des boutures bien que celles-ci eussent été placées verticalement pendant le bouturage.

La question se posa immédiatement : cette curieuse position des racines **uniquement** sur la face ventrale, c'est à-dire sur la face la moins éclairée,

1) tient-elle à une disposition anatomique ou à des particularités cytologiques ?

2) ou bien est-elle le résultat de l'accumulation de substances dans la moitié inférieure des rameaux pendant leur séjour sur l'arbre ?

M. le Professeur Monoyer s'est chargé de faire des coupes dans le matériel végétal et il n'a constaté aucune disposition anatomique particulière dorsiventrale. Voici ce qu'il nous a écrit :

« Les feuilles de Houx sont insérées en spirale autour de la tige, mais » les feuilles des rameaux florifères latéraux qui sont en position horizontale » prennent, sur l'arbre, une disposition pennée (dorsiventrale) par torsion des » pétioles. Ceci n'entraîne pas de disposition anatomique dorsiventrale. Au » sujet des épidermes de ces rameaux, notons que les stomates sont très rares » et qu'il n'y en a pas plus sur une face que sur l'autre. Des poils courts et » trapus se rencontrent sur les deux faces.

» Une teinte rougeâtre due au suc cellulaire des cellules sous-épidermi- » ques marque la face dorsale. »

Il n'existe donc aucune disposition anatomique particulière qui détermine, dans les conditions normales, la formation des racines, en ordre principal sur la face ventrale des boutures de Houx.

C'est pourquoi dans cette expérience, nous avons fait varier les conditions expérimentales en plaçant les boutures de diverses manières dans les couches (voir page 78) et en mutilant les boutures de manière à séparer par

une lame de mica, sur une certaine hauteur, les deux faces des boutures et empêcher ainsi le passage d'éventuelles substances chimiques.

Après 30 jours d'expérience, l'examen a montré que sur les boutures portant des racines (61 chez les traitées, plus 20 chez les non-traitées), douze boutures présentaient des racines sur les deux faces (voir photo Pl. 10 fig. 1) et principalement là où elles étaient placées à peu près horizontalement, c'est-à-dire dans la position qu'elles occupaient sur l'arbre.

Chose curieuse, sur les boutures (traitées ou témoins) placées à peu près horizontalement, mais en position inverse de celle qu'elles occupaient sur l'arbre, il n'y a eu qu'un seul cas d'apparition de racines sur la partie dorsale, du moins après trente jours. Lorsque l'expérience s'est prolongée, des touffes supplémentaires de racines sont apparues tout autour des jeunes tiges nouvellement enracinées.

Ce premier résultat indique donc qu'il n'y a pas dans les tiges de Houx de régions histochimiques particulièrement spécialisées pour l'enracinement dans le sens dorsiventral.

Cependant, nous reprendrons la question dans des expériences ultérieures.

## CONCLUSIONS[1]

1) La rhizogenèse sur les branches de Houx munies de fruits dépend spécifiquement de facteurs biochimiques internes. Les hormones d'application en sont les révélateurs au même titre que certains facteurs extérieurs lorsqu'ils se trouvent appliqués dans des conditions optimales.

2) Les deux faces des rameaux dorsi-ventraux de Houx sont qualitativement sinon quantitativement équivalentes au point de vue de la rhizogenèse.

Décembre 1948

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
*Centre de recherches des Hormones végétales* ( I. R. S. I. A. )

(1) Toutes les vitamines et substances de croissance utilisées au cours de nos expériences nous ont été aimablement offertes par les « Produits Roches ». Qu'ils trouvent ici l'expression de nos meilleurs remerciements.

Boutures de Houx traitées et couchées horizontalement en position normale. Après 30 jours, racines sur les deux faces.

Boutures de Houx témoin, région ventrale enlevée. Racines au sommet de la zone mutilée après 30 jours.

L'exemplaire de gauche de la planche 11. Après 72 jours, racines sur les deux faces.

## BIBLIOGRAPHIE


1. — Ray. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand. — Phytohormones et Organogenèse. *Proceed. of the 6th Intern. Cong. of Exper. Cytology*, Stockholm, 1947.
2. — Ray. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand. — Détermination des facteurs de la Rhizogenèse ***Bull. Cl. Sc. Ac. Roy. Belg.***, 6-12-1947, pp. 790-806 ; Proposition d'une théorie de la Rhizocaline, *ibid.*, 13-12-1947, pp. 870-884.
3. — Ray. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand. — Contribution à la Théorie de la Rhizocaline. *Lejeunia, Revue de Botanique*, t. 11, 1947, pp. 17-36.
4. — Ray. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand. — Le Bouturage des Houx. *Le Bulletin Horticole*, *3* (12), 1948, pp. 358-364.
5. — G. Avery et E. Johnson. — Hormones and Horticulture. New-York, 1947.
6. — H. A. A. Van der Lek et E. Krijthe. — Over groeistoffen en hare toepassing in den tuinbouw, in het bijzonder bij het stekken. *Med Tuinbouwvoorlichtingsdienst*, n° 250, 1941.
7. — E. J. B. Verleyen. — Le bouturage et les substances de croissance synthétiques. Anvers, 1948.
8. — J. Van Overbeek et L. Gregory. — An analysis of the fonction of the leaf in the process of root formation in cuttings. *Amer. Jr. Bot.*, *33* (2), pp. 100-107, 1946.
9. — F. Skoog et Cheng Tsu. — Chemical control of growth and bud formation in Tobacco Stem segments and callus cultured in vitro. *Amer. Jr. Bot.*, *35* (10), pp. 782-787, 1949.

Publications du Centre de Recherches des Hormones végétales
de l'Université de Liége.

IV.

# LE BOUTURAGE DES HOUX

## *AU MOYEN DES HORMONES D'APPLICATION*

par R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND

L'EMPLOI DES HORMONES et de leurs succédanés synthétiques peut être considéré aujourd'hui comme une révolution apportée aux techniques horticoles et agricoles.

Cette révolution aura une importance comparable à celle qu'amenèrent successivement ntroduction des engrais minéraux et l'utilisation de machines agricoles perfectionnées.

Ce nouveau moyen d'agir sur la croissance et le développement des plantes en est cepen- ıt encore à ses débuts. Il doit éviter l'écueil d'une utilisation excessive et irraisonnée qui nduit à des échecs et amène des conclusions incorrectes. Peut-être est-il naturel de dire : Voici un échec, donc la méthode est mauvaise ». Mais la raison véritable de l'échec est très uvent que la méthode est mal appliquée.

Depuis que fut installé à Liège un Centre de documentation et de recherches sur les Hor- nes végétales, nous ne cessons de répéter : les hormones végétales naturelles ou synthétiques t des corps extraordinairement *actifs*. A doses minimes, ils sont toxiques et mortels pour les gétaux. On ne donne pas de strychnine aux animaux comme on leur donne des farines, et endant la strychnine est utilisée journellement... On ne distribue pas aux plantes des hor- nes comme on leur apporte des engrais, et cependant les hormones sont entrées dans la tique courante de l'horticulture progressiste.

Evidemment, il a fallu assez logtemps pour que la découverte, par F. WENT, en 1928, ne technique permettant de doser la première substance de croissance mise en évidence, abou- e à des conséquences utiles aux praticiens. Il était nécessaire que cette technique puisse être liquée en grand, comme elle le fut dans les laboratoires de l'Université d'Utrecht en 1930, ar qu'elle permît d'isoler une substance inconnue dont l'action, très forte en quantités nitésimales, était encore mystérieuse. C'est ainsi qu'en 1933, on put obtenir à l'état pur et tallisé la première hormone végétale — l'auxine — et qu'en 1934, l'hétéroauxine ou acide ol-acétique fut extraite de l'urine où elle est abondante surtout après une diète riche en illes de Salade.

Il a fallu longtemps aussi pour que les substances formatrices de racines, mises en évidence R. BOUILLENNE et WENT en 1933 dans les tiges, les bourgeons et les feuilles exposées à la ière, intéressent les techniciens du bouturage et que la prédiction de BOYSEN-JENSEN dans traité classique sur les hormones végétales [1], se réalise. Ne disait-il pas (p. 15) « que les tra- x sur les hormones *have opened up new phases of the general investigation which may ome valuable in horticultural practice* (BOUILLENNE and WENT, 1933 ; HITCHCOCK and MERMANN, 1935 ; COOPER, 1935) ».

Malgré les nombreux travaux réalisés sur la question du bouturage, celui-ci reste néan- ins difficile à réussir si l'on ne dispose pas de renseignements précis sur la manière de procéder r chaque espèce intéressante. Les hormones végétales d'application fournies aujourd'hui par les es chimiques ne sont pas des substances formatrices de racines ; elles sont uniquement des tances activantes de certaines réactions biochimiques internes et, pour être profitables, elles

1. Growth Hormones in Plants, MAC GROWHILL Book Cy. traduit en anglais par AVERY. New-York, 1936.

FIG. 1. — La rangée supérieure représente les boutures témoins de Houx, non traitées. — La rangée inférieure représente les boutures de Houx traitées pendant quatre heures par une solution d'hormones : 0,200 g acide indol-acétique et 0,200 g acide indol-butyrique dissous dans le liquide nutritif ; photographiées trois mois après le traitement (Photo R. Sauveur).

doivent trouver dans les boutures des conditions internes favorables qui sont précisément fond mentales pour la formation des racines.

*
**

A ce point de vue, nous venons de réussir, dans la section des recherches sur le boutura du Centre de Recherches des Hormones végétales, une expérience de mise au point qui intéresse sans doute les praticiens [1], lecteurs du *Bulletin Horticole*.

Il s'agissait de bouturer rapidement des rameaux de Houx en fruits (*Ilex aquifolium* L.

## BOUTURAGE DE *ILEX*

I. - Une *première expérience* d'orientation fut faite en décembre 1947 sur un lot de 4 boutures de Houx prélevées au Jardin de Botanique de l'Université de Liège :

20 furent mises à une température basse de —4 à —5° C. pendant quatre jours (vern lisation) ;

20 furent laissées à la température du laboratoire.

Chacun des lots fut divisé en deux séries de 10 boutures ; dans chaque lot, une série de 1 fut traitée pendant *quatre heures* par un mélange d'hormones d'application, puis placée pendan vingt-quatre heures dans un liquide nutritif dont la composition a été mise au point par n expériences antérieures (voir page 7). La seconde série a servi de témoin.

Les quatre séries ont ensuite été mises dans un mélange de sable et de terreau et placées e couche chauffée au thermosiphon (tenue à température moyenne de 12 à 15° C.). Les feuill étaient vaporisées, les témoins avec de l'eau, les plantes traitées avec le liquide nutritif. L hormones sont constituées d'un mélange (400 mg/litre) d'acides indol-acétique et indo butyrique.

Nous avions donc quatre séries de boutures :

1) 10 témoins vernalisés ;
2) 10 témoins non vernalisés ;
3) 10 boutures vernalisées et traitées aux hormones ;
4) 10 boutures non vernalisées et traitées aux hormones.

Trois mois après le début de l'expérience (18 mars 1948), les résultats se présentaient ainsi

TABLEAU I

| Boutures de Houx | vernalisées | non vernalisées (fig. 1) |
|---|---|---|
| Témoins | Toutes mortes<br>Pas de racines | Pas de racines [2] |
| Traitées | Mortes, sauf trois<br>Pas de racines | Toutes sont vivantes ;<br>quatre ont de belles racines. |

1. Ces essais ont été réalisés à la demande de M. HABRAN, Conseiller d'Horticulture de l'Etat.
2. Ultérieurement trois boutures témoins ont fait des racines et sont conservées ; les autres sont mortes.

Cette *expérience préliminaire* nous montre :

1) qu'il est possible de bouturer du Houx au moyen des hormones d'application ;

2) que la dose employée, même pendant quatre heures seulement, est trop forte, car les arties traitées par les solutions ont accusé des phénomènes de toxicité. Cependant, à l'heure ctuelle, en décembre 1948, les quatre boutures enracinées sont en excellente végétation dans os serres ;

3) que le traitement par le froid est inutile pour le bouturage du Houx.

II. - La *seconde expérience* fut faite sur une grande quantité de branches de Houx en variant âge des boutures et les conditions d'expérimentation.

Expérience commencée le 6 mai 1948 sur deux séries de boutures :

a) ligneuses, aoûtées portant fleurs et fruits ;

b) herbacées, pousses de l'année.

Traitements :

*A.* Trempage des boutures dans les solutions d'hormones de diverses concentrations :

1) 200 mg/litre, trempage 16 heures.

2) 100 mg/litre, trempage 16 heures.

3) 50 mg/litre, trempage 24 heures.

Les hormones sont dissoutes dans la solution nutritive (voir p. 7).

*B.* Traitement à la pâte de lanoline contenant 2 mg d'un mélange d'hormones d'application ar gramme d'excipient (Acide α naphtalène-acétique et Acide β indol-butyrique en quantités gales).

Les hormones sont incorporées à 10 g de lanoline anhydre. Celle-ci est ensuite émulsionnée vec 10 cc de la solution stock de micro-aliments. Elle est appliquée au moyen d'une spatule ans une entaille faite longitudinalement sur la branche de Houx, en ayant soin que la zone mbiale d'où doivent sortir les racines soit mise à nu par l'entaille (fig. 2).

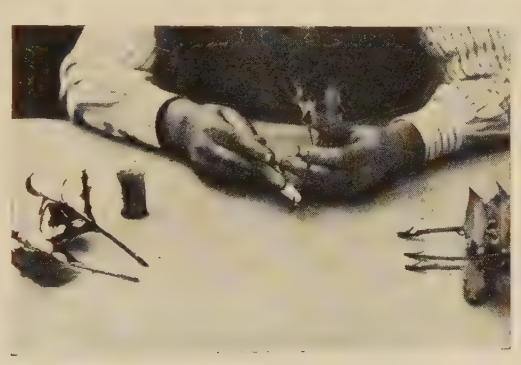


Fig. 2. — Technique du traitement à la pâte de lanoline (Photo R. Sauveur).

La pâte est appliquée entre les lèvres de l'entaille :

a) sur boutures coupées, ligneuses et herbacées, puis mises immédiatement en couches après traitement ;

b) sur branches ligneuses provisoirement laissées sur l'arbre pendant trois semaines, puis ctionnées sous l'entaille et mises en bouturage [1].

Enfin, deux séries de témoins ont été prévues :

4) boutures trempées dans l'eau ;

5) boutures traitées à la lanoline seule, ne contenant pas d'hormones.

Toutes les boutures, traitées et témoins, ont ensuite été mises dans des pots individuels ns un mélange de terreau et de sable, dans une couche dont la température moyenne a varié con les fluctuations météorologiques du moment.

Les plantes traitées sont vaporisées tous les jours, ensuite tous les *deux jours*, avec notre quide nutritif.

Les plantes témoins sont vaporisées en même temps avec de l'eau.

1. Le traitement à la pâte d'hormones de branches de Houx provisoirement laissées sur l'arbre avait pour but provoquer l'apparition d'un cal à la blessure et de voir si, de ce cal, des racines n'apparaîtraient pas rapidement s le la mise en terre de la bouture.

Le résultat de cette multiple expérience, après trois mois, est figuré dans le tableau suivant :

TABLEAU II

| Traitement par les solutions | Nature des boutures | Résultats après trois mois 6 août 1948 |
|---|---|---|
| 200 mg/litre | 25 ligneuses<br>25 herbacées | Toutes sont mortes<br>Toutes sont mortes<br>Phénomène de toxicité violente et aucune formation de racines |
| 100 mg/litre | 25 ligneuses<br>25 herbacées | Toutes sont mortes<br>Toutes sont mortes |
| 50 mg/litre | 25 ligneuses<br>25 herbacées | 23 sont mortes, 2 sont vivantes.<br>10 sont mortes, 15 sont vivantes.<br>15 n'ont pas de racines, 5 ont des racines. |
| Témoins | 25 ligneuses<br>25 herbacées | Mortes ou mourantes.<br>Toutes sont vivantes ; *aucune* racine.<br>7 boutures portent des cals (fig. 3). |
| Traitement par Pâte à la lanoline | | |
| 2 mg/cc de lanoline.<br>Boutures traitées et empotées | 30 ligneuses<br>32 herbacées | Toutes sont mortes ou mourantes.<br>3 sont mortes ; *29 ont des racines* (fig. 4). |
| Boutures traitées laissées trois semaines sur l'arbre, puis empotées | 30 ligneuses | Toutes vivantes ; cals très volumineux ; pas de racines. |
| Témoins | 30 ligneuses<br>30 herbacées | Mortes ou mourantes.<br>Toutes vivantes ; pas de racines. |

FIG. 3. — Boutures témoins de Houx, trois mois après le début de l'expérience (Photo R. Sauveur).

Le seul résultat pratique de cette expérience est celui obtenu sur boutures herbacées traitées à la pâte d'hormones : *29 plantes sur 32 sont enracinées après trois mois, tandis que les témoins n'ont à cette époque pas une seule racine.*

Ajoutons qu'à l'heure actuelle, les boutures de cette série traitée sont en parfaite santé et constituent de jeunes plantes de Houx absolument normales dont certaines commencent à fleurir.

Fig. 4. — Boutures herbacées de Houx traitées à la pâte aux hormones ; trois mois après le début de l'expérience (Photo R. Sauveur).

Nous ne discuterons pas ici les autres résultats obtenus, notamment les causes des échecs sur boutures ligneuses qui se sont montrées particulièrement sensibles à la toxicité. Il en sera parlé ailleurs. Pour les expériences suivantes, nous avons diminué les doses d'hormones appliquées en solution.

III. - La *troisième expérience* a été commencée le 28 septembre 1948 sur branches de Houx portant des fruits. Ces rameaux étaient âgés de deux ou trois ans.

Six séries sont prévues :

25 boutures traitées par une solution hormonale à 25 mg par litre pendant six heures ;
25 boutures traitées par une solution hormonale à 12 mg 5 par litre pendant douze heures ;
25 boutures témoins trempées pendant douze heures dans le liquide nutritif seul ;
25 boutures traitées à la pâte de lanoline et hormones (2 mg par gramme de lanoline) ;
25 boutures témoins traitées avec lanoline seule ;
25 boutures témoins plongées uniquement dans de l'eau.

Les boutures sont placées ensuite dans du sable lavé soigneusement, dans de petites couches parées (une par série) recouvertes de vitres, le tout dans une serre non chauffée dont les mites extrêmes de température ont été, du 29 août au 20 octobre, de 30° C. à 10° C., avec moyenne de 20° C. A partir du 20 octobre, la température a brusquement baissé ; les extrêes ont été de 21° C. à 9° C., avec des moyennes de 15° C.

Les cinq premières séries de boutures ont été vaporisées tous les jours avec le liquide nutritif ne contenant pas de sucre, les conditions de lumière permettant la photosynthèse dans les uilles). La sixième série a été vaporisée avec de l'eau.

Le 22 octobre, soit 25 jours après le début de l'expérience, le tableau des observations se ésente de la manière suivante :

Tableau III

| Traitement par les solutions | Etat des boutures 25 jours après le traitement [1] | |
|---|---|---|
| 25 mg/litre pendant 6 heures. | 9 sur 25 ont de belles racines (fig. 5) | les plantes et les racines sont d'apparence normale. |
| 12,5 mg/litre pendant 12 heures. | 6 sur 25 ont de belles racines | |
| Liquide nutritif seul ; et vaporisation régulière au liquide nutritif. | 4 sur 25 ont de petites racines peu nombreuses. | |
| Témoin. Eau seule ; et vaporisation à l'eau. | Pas de racines. | |
| Traitement par Pâte à la lanoline. | | |
| 2 mg/g de lanoline. | Aucune racine. | |
| Témoin. Lanoline seule. | Aucune racine. | |

1. 54 jours après le traitement, soit le 22 novembre, l'enracinement des boutures a progressé comme suit :
série 25 mg/litre . . . . . 15 boutures enracinées.
série 12,5 mg/litre . . . . . 16 boutures enracinées.
série liquide nutritif seul . . . . . 6 boutures enracinées.
série eau seule . . . . . 0 bouture enracinée.
série 2 mg/g de lanoline . . . . . 1 bouture enracinée.
série témoin lanoline seule . . . . . 3 boutures enracinées.

Fig. 5. — Boutures de Houx munies de leurs fruits, enracinées après vingt-cinq jours. Traitement : 25 mg acide indol-acétique par litre de solution nutritive Bouillenne pendant six heures. Vaporisation tous les jours avec liquide nutritif (Photo R. Sauveur).

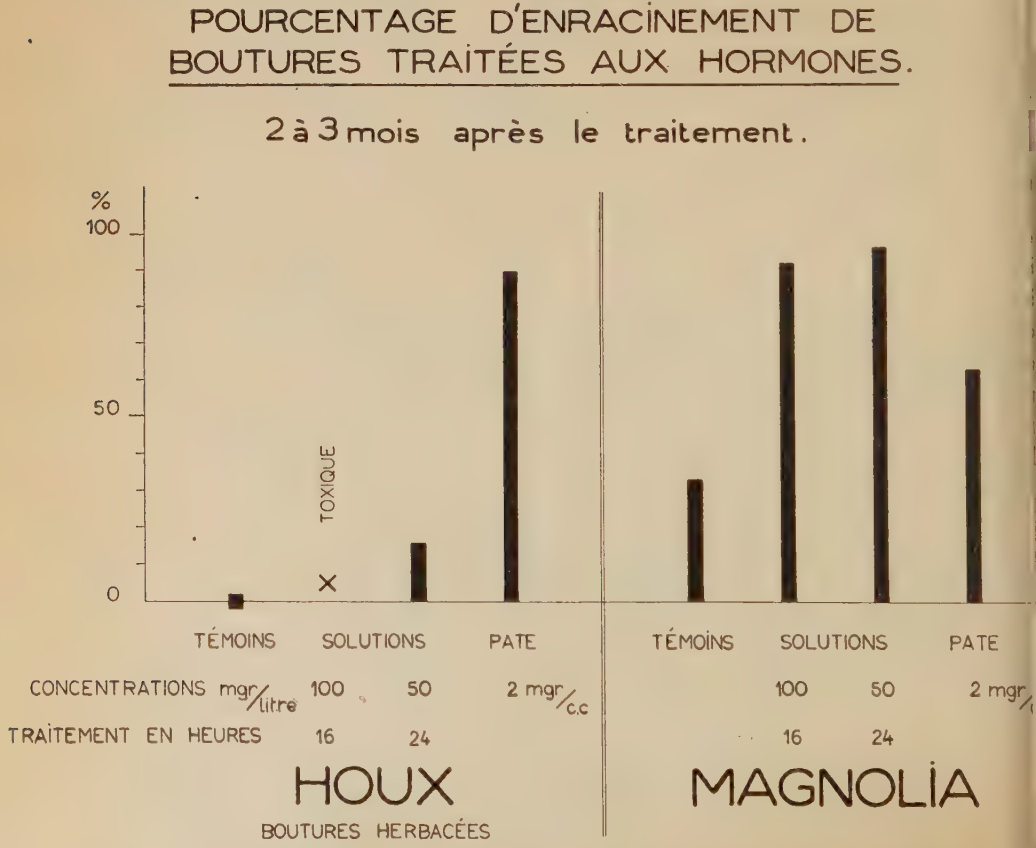
*La planche en couleurs qui figure en regard de la page 4 est fournie par la première plante à gauche.*

La figure 5 représente six boutures de la première série. La première à gauche de la pho est reproduite en couleurs en regard de la page 4.

Cette expérience n'est pas terminée après 25 jours ; mais elle nous permet cependant d'affi mer que l'on peut obtenir le bouturage de branches de Houx, portant des fruits, tout gardant aux fruits leur apparence absolument saine et leur couleur normale.

Ce dernier résultat est évidemment dû à l'aspersion régulière par le liquide nutritif q entretient fleurs et fruits dans une atmosphère d'humidité constante et qui fournit aux tiss les micro-aliments (hormones-vitamines) et les éléments métalliques nécessaires au maintien la bonne santé de la bouture jusqu'au moment où son système radiculaire l'affranchit et met plante dans les conditions où elle devient capable de trouver dans le sol ce qui lui est nécessai pour faire ses synthèses.

Nous résumons dans le schéma suivant et dans la figure 6 les résultats favorables obten sur le bouturage des Houx au moyen d'hormones d'application.




Ce schéma donne aussi les résultats obtenus sur le bouturage du Magnolia. Nous en parlerons dans un prochain article.

RESULTATS.

Si nous examinons les résultats obtenus dans ces quelques essais, nous y trouvons une nouvelle confirmation des données déjà classiques :

L'action des hormones d'application pour l'enracinement des boutures dépend de divers facteurs :

1) Des concentrations utilisées :
   *a*) concentrations trop fortes : phénomènes de toxicité et malformations ;
   *b*) concentrations optimales : action accélératrice très marquée surtout sur les plantes qui possèdent suffisamment de facteurs internes de différenciation radiculaire.

2) *De l'espèce végétale et même de la variété :*
   *a*) les concentrations favorables varient donc ; il y a des espèces plus sensibles que d'autres. Le Magnolia résiste beaucoup mieux que le Houx (voir diagramme), mais d'autre part les Conifères sont particulièrement sensibles. Dans un prochain article nous montrerons que les doses actives et bienfaisantes pour des plantes comme le Houx et le Magnolia tuent immanquablement les *Conifères* comme *Epiceas* et *Pins.*
   *b*) dans une même espèce ou variété, l'âge de la bouture est très important (expérience sur le Houx).

3) De certains facteurs importants comme la saison de l'année, qui est déterminante, et aussi des conditions externes autour des boutures : température, lumière, humidité. Bien que nous n'ayons pas insisté dans cet article sur l'action de ces facteurs, il n'est que trop certain qu'ils jouent un rôle de premier plan. Ils doivent pouvoir être étudiés en milieu connu, maintenu absolument constant pendant toute la durée d'une expérience par le moyen de serres conditionnées. Il n'en existe pas encore en Europe ; mais heureusement, grâce à l'initiative de l'Institut pour la Recherche scientifique appliquée à l'Industrie et à l'Agriculture (I. R. S. I. A.), le Centre de Recherches des Hormones végétales de l'Université de Liège va pouvoir utiliser un dispositif approprié parfaitement conditionné.

## OMPOSITION DU LIQUIDE NUTRITIF M. ET R. BOUILLENNE

| | |
|---|---|
| ccharose . . . . | 15 g pour 1.000 cc. |
| cide β indol-acétique | 10 γ |

(Le signe γ grec indique le millième de mg.)

| | |
|---|---|
| tamine $B_1$ . . . | 1 mg |
| tamine $B_6$ . . . | 0,1 mg |
| cide nicotinique . | 0,5 mg |
| cide ascorbique . . | 1 mg |
| lf. adénine . . . | 0,5 mg |
| ntothénate Ca . . | 0,25 mg |
| ycine . . . . . | 1 mg |
| alanine . . . . | 1 mg |

La solution stock est composée du mélange dessus × 100, moins le sucre qui est ajouté moment de l'emploi.

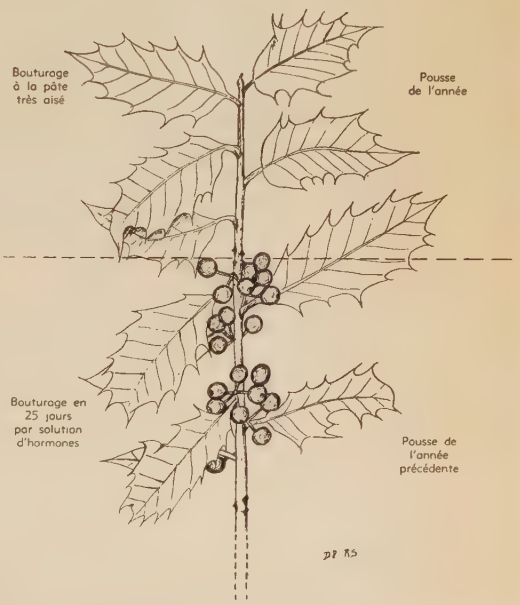



FIG. 6. — Ce dessin montre les résultats obtenus dans le bouturage du Houx :
*a*) sur pousse de l'année au moyen de la pâte ;
*b*) sur pousse de deux ans au moyen de solutions d'hormones d'application.

Extrait du *Bulletin Horticole*,
vol. III, n° 12, pp. 358-364,
Liége 1948.

Publications du Centre de Recherches des Hormones végétales
de l'Université de Liége.

V.

# LE BOUTURAGE DES MAGNOLIAS ET DES CONIFERES

par R. BOUILLENNE et M. BOUILLENNE-WALRAND

DANS LE PRECEDENT ARTICLE [1] consacré au bouturage du Houx (*Ilex aquifolium* L.), nous avons montré qu'il était possible d'obtenir d'excellents résultats d'enracinement soit par le traitement à la pâte de lanoline contenant des hormones d'application, soit par trempage dans des solutions hormonales de certaines concentrations.

Dans la présente note, nous allons montrer que les Magnolias s'accommodent fort bien de solutions contenant des concentrations qui sont toxiques pour le Houx, tandis que les concentrations excellentes pour le Houx sont néfastes aux Conifères.

Rappelons que, *chez le Houx*, nous avons obtenu un enracinement massif des boutures par :

1. Traitement de pousses de l'année au moyen de la pâte de lanoline contenant 2 mg d'hormones par g de lanoline ;
2. Traitement au moyen de solutions hormonales à 25 mg et 12,5 mg par litre (trempage respectivement pendant 6 à 12 heures).

## I. LE MAGNOLIA

COMME LE HOUX, le Magnolia se bouture difficilement sans traitement particulier ; les jardiniers emploient habituellement le marcottage. Le bénéfice d'un traitement hormonal doit donc être, dans ce cas, une accélération notable dans la vitesse d'enracinement un enracinement plus abondant, résultant d'un mode d'action particulier des hormones application, qui accélèrent les réactions biochimiques internes contrôlant la différenciation diculaire.

Voici le protocole de l'essai réalisé sur *Magnolia Soulangeana* L., espèce à grandes fleurs es et blanches. Expérience commencée le 19 juin 1948 sur les boutures prélevées au Jardin tanique de l'Université de Liège (pousses vertes de l'année).

RAITEMENTS :

*a*) Trempage des boutures dans des solutions d'hormones (voir note sur le bouturage du oux) à diverses concentrations :

1. 200 mg par litre de liquide nutritif pendant 16 heures ;
2. 100 mg par litre de liquide nutritif pendant 16 heures ;
3. 50 mg par litre de liquide nutritif pendant 24 heures.

*b*) Application d'une pâte de lanoline contenant, par g, 2 mg d'hormones.

*c*) 27 boutures témoins sont prévues, qui ont uniquement été trempées dans le liquide tritif.

Après traitement, toutes les boutures sont placées dans des couches (une couche par série périmentale), dans du sable lavé, dans une serre non chauffée dont la température yenne a varié de 17° à 26° au cours de l'expérience. Ensuite, pendant toute la durée de périence, elles sont vaporisées avec la solution nutritive dont nous avons signalé l'emploi propos de nos expériences sur le Houx. Les boutures témoins sont vaporisées avec de l'eau. tte pratique se répète une ou deux fois par jour, pour maintenir une humidité constante sur feuilles.

1. Cfr *Bulletin Horticole*, 3, (12), pp. 358-364 ; 1948.

RESULTATS :

Les résultats sont ici remarquables parce que *Magnolia* est une plante qui possède dans ses tissus, en assez grande quantité, les facteurs spécifiques de la néoformation radiculaire.

Le tableau n° 1, ainsi que les figures 1, 2 et 3 et le diagramme récapitulatif inséré dans le précédent article, donnent la mesure de cette action accélératrice des hormones d'application.

TABLEAU I. — EXPÉRIENCE DE BOUTURAGE SUR *Magnolia Soulangeana* L.

| | Traitements | Nombre des boutures (Portion verte de l'année) | Après deux mois | Observations |
|---|---|---|---|---|
| Solutions | 200 mg/litre 16 heures | 25 | 25 mortes | |
| Solutions | 100 mg/litre 16 heures | 25 | 23 avec racines, 2 mortes (fig. 1). | Plantes bien saines, racines légèrement déformées. |
| Solutions | 50 mg/litre 24 heures | 26 | 25 avec racines, 1 morte (fig. 2). | Plantes bien saines, racines normales, longues, sans déformation. |
| | TÉMOINS | 27 | 7 avec racines, 20 sans racine. (fig. 3). | Après 4 mois, quelques boutures parmi les 20 ont donné des racines ; les autres sont mortes. |
| Pâte | 2 mg/g lanoline | 16 | 10 avec racines, 2 sans racine, 4 mortes. | |

Toutes les boutures traitées et enracinées sont bien vivantes aujourd'hui ; elles possèdent de beaux bourgeons et sont mises en repos dans les couches froides du Jardin Botanique. Des témoins non enracinés après deux mois, ont donné des racines après quatre mois ; mais beaucoup sont morts.

Il n'est donc pas douteux que le traitement des boutures herbacées de *Magnolia* par une solution d'hormones d'application à la concentration de 50 mg/litre pendant 24 heures constitue pour les praticiens un moyen simple et rapide pour obtenir des jeunes plantes saines et vigoureuses. De plus, on ne doit craindre aucun danger de nécrose ultérieure, ce qui est souvent le cas lorsqu'on applique des doses trop fortes, pendant un temps trop long.

## II. LES CONIFERES

NOUS AVONS EXPERIMENTE du 11 juin au 17 juillet 1948, sur diverses espèces de *Conifères*, la plupart venant des pépinières de M. GALLAIX de Tilff.

Les expériences relatées dans le présent article constituent uniquement un travail d'orientation. Le temps nous a manqué pour pousser l'étude de façon systématique comme nous l'avons fait pour le Houx. De plus, le bouturage des Conifères est une entreprise assez décevante, qui a déjà découragé de nombreux chercheurs.

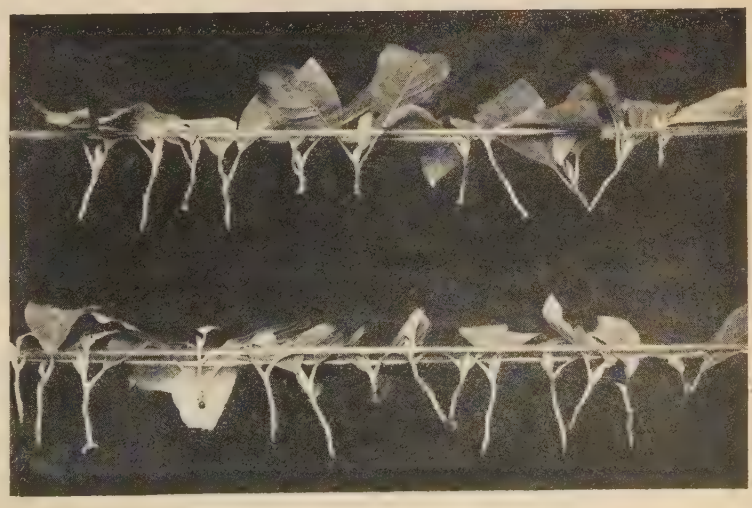
Voici, à titre documentaire, une série de publications que pourront consulter les techniciens que cette question intéresse :

J. RAPPAPORT : Groeistoffen en hun Beteekenis voor de Praktische Tuinbouwer. Jaarboek over 1938-1939 van het oud-studenten en studenten verbond der Rijkstuinbouwschool Gent te Melle.

K. V. THIMANN and Albert L. DELISLE : The vegetative Propagation of difficult Plants. Journal of the Arnold Arboretum of Harvard University, **20**, (I), pp. 116-136 ; 1939.

1. — Boutures de *...nolia* traitées par une ...ion hormonale à 100 mg/ ... pendant 16 heures. — ...eux mois après le début de ...périence ; racines légè... ...ent déformées.

FIG. 2. — Boutures de *Magnolia* traitées par une solution hormonale à 50 mg/ litre pendant 24 heures. — Deux mois après le début de l'expérience ; racines normales.



... 3. — Boutures de *...nolia* : témoins. — Deux ... après le début de ...périence, les quelques ra... apparues sont encore ... petites.
(Photos R. Sauveur.)

H. E. Hitchcock and P. W. Zimmerman : Comparative Activity of Root Inducing Substances a Methods for Treating Cuttings. Contrib. Boyce Thompson Inst. **10**, (4), pp. 461-480 ; 1939.
Carl G. Deuber and John L. Farrar : Vegetative Propagation of Norway Spruce. Journ. Forestry, **38**, (7), pp. 578-585 ; 1940.
J. W. Mitchell and Ruby R. Rice : Plant Growth Regulators. Miscellaneous Publication nº 4 United States Department of Agriculture, 1943.
A. Van der Lek en Ir E. Kriythe[6]: Over de Groeistoffen en hare Toepassing in den Tuinbo in het Bijzonder bij het Stekken. Mededeelingen van den Tuinbouwinlichtingsdienst, nº 25, 1941.

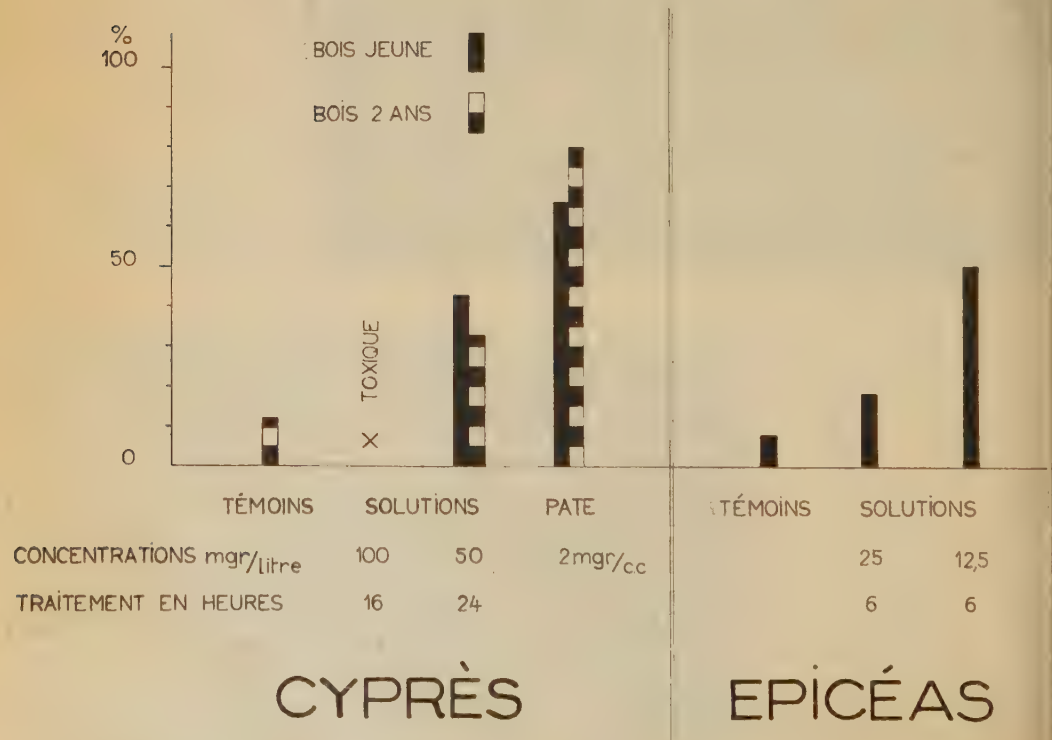
Beaucoup d'auteurs considèrent que le traitement par hormones d'application pour le bout rage des Conifères est sinon néfaste, tout au moins inefficace (Mitchell pour *Cupress Lawsoniana* ; Deuber et Farrar pour *Picea excelsa*).

Il est bien certain que les Conifères (voir notre travail sur l'action du 2-4 D comme déshe bant de pépinières de Conifères) [1] sont extraordinairement sensibles à l'action des hormon d'application. Des concentrations utilisées couramment sur du matériel végétal ordinai (15-50-100 mg/litre) les tuent immanquablement.

Ils ne sont d'ailleurs pas seuls à présenter cette caractéristique ; la Vigne donne un aut exemple d'une sensibilité véritablement frappante.

Au cours de l'année écoulée, nous avons fait dans les serres de l'Ecole de Viticulture La Hulpe des essais de traitement de jeunes grappes de raisin Muscat [2] par des produits des concentrations qui nous avaient donné d'excellents résultats dans le traitement des fleu de Tomate [3]. Toutes les grappes sans exception ont avorté et présenté des phénomènes ma qués d'intoxication, des déformations.

## POURCENTAGE D'ENRACINEMENT DE BOUTURES TRAITÉES AUX HORMONES
### 2 à 3 mois après le traitement




1. Cfr *Bulletin Horticole*, *3*, (6), pp. 163-170 ; 1948.
2. Travail fait avec la collaboration de MM. de Marneffe et Delhaye, de l'Ecole de Viticulture de La Hulp
3. Cfr *Bulletin Horticole*, *3*, (10), pp. 291-299 ; 1948.

Cela signifie-t-il que les Conifères ou la Vigne ne peuvent répondre favorablement à l'utilisation des hormones végétales ? Certes non ! Mais il faut faire une recherche systématique, augmenter les dilutions, étudier le mode et les conditions d'application, et aussi déterminer avec précision le moment propice du traitement. Dans tous les cas, il ne convient pas de s'engager dans une utilisation sur le plan industriel avant que les essais de laboratoire puissent apporter des résultats définitifs.

Dans la relation qui va suivre de nos essais sur *Chamaecyparis Lawsoniana (Cupressus Boskoop)*, essais réalisés dans des conditions bien déterminées, on verra que le traitement par hormones permet un enracinement de 93 % en moins de deux mois.

## RÉSULTATS.

Les expériences sur Conifères ont eu lieu au mois de juin 1948, puis au mois de juillet, à des moments qui, d'après diverses recherches, sont peu favorables au bouturage des Conifères. Les praticiens préfèrent généralement l'arrière-saison.

### 1. Bouturage du Cyprès Boskoop.

Les essais ont commencé les 11 juin et 19 juillet 1948, avec des rameaux de un an ou deux à trois ans, prélevés sur des arbres adultes. Les traitements ont été les mêmes que pour les boutures de Houx ; nous renvoyons à l'article traitant ce sujet.

Tableau II. — Expérience de bouturage sur *Cyprès de Boskoop*

| Dates | | Traitements | Nature de la bouture | Résultats obtenus après 60 jours | Résultats obtenus après 83 jours | Résultats obtenus après 136 jours |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 19 juil. 1948 | Solutions | 200 mg/litre pendant 16 heures. | Bois de 2 ans, 10 boutures. | 10 mortes. | — | — |
| | | | Bois de 1 an, 15 boutures. | 1 avec racine, 14 mourantes. | 1 vivante, 14 mortes. | 1 vivante, 14 mortes. |
| | | 100 mg/litre pendant 16 heures. | Bois de 2 ans, 10 boutures. | 3 vivantes sans racine, 7 mortes. | 3 mortes. — | — — |
| | | | Bois de 1 an, 20 boutures. | 3 avec peu de racines, 17 sans racine. | 4 av. racines, 16 mortes. | 4 mortes par nécrose des racines. |
| | | 50 mg/litre pendant 24 heures | Bois de 2 ans, 6 boutures. | 2 avec nombreuses racines, 4 s. racines. | 2 enracinées, 4 mourantes. | 2 enracinées bien vivantes. 4 mortes. |
| | | | Bois de 1 an, 23 boutures. | 10 av. racines, 1 sans racine, 12 mortes. | 4 vivantes, 11 av. racines. — | 7 mortes. — |
| 11 juin 1948 | | 12,5 mg/litre pendant 15 heures | Bois de 1 an, 15 boutures. | 14 av. racines, 1 sans racine. | 14 enracinées, 1 sans racine. | 14 bien port. 1 morte. |
| | Pâte | 2 mg/g lanoline | Bois de 2 ans, 9 boutures. | 6 av. racines, 3 sans racine. | 9 av. racines. | 9 enracinées et bien port. |
| | | | Bois de 1 an, 15 boutures. | 9 av. racines, 6 sans racine. | 11 av. racines, 1 morte, 3 sans racine. | 14 enracinées, et bien port. |
| | Témoins | | Bois de 2 ans, 25 boutures. | 1 enracinée, 24 sans racine. | 1 enracinée, 24 sans racine. | 1 enracinée, 24 sans racine. |
| | | | Bois de 1 an, 25 boutures. | 25 sans racine. | 2 enracinées, 23 sans racine. | 2 enracinées, 23 sans racine. |

Toutefois, devant la constatation de la grande toxicité de nos solutions sur les Conifè nous avons procédé à de nouveaux essais (19 juillet 1948) en diluant nos hormones d'ap cation à 25 et 12,5 mg par litre et en réduisant la durée de trempage à 6 heures et 15 heu

Les boutures traitées et les témoins ont été placées dans du sable, en couches (une cou par série expérimentale), dans une serre non chauffée dont la température moyenne a v de 17° à 26° pendant l'essai.

Le tableau II résume les essais et le diagramme I en donne l'illustration.

Le résultat le plus remarquable est fourni par l'action de la solution d'hormones à 1 mg/litre (trempage 6 heures) : sur 15 boutures de bois de un an, 14 boutures se sont en cinées en moins de 2 mois ; elles constituent aujourd'hui de belles plantes, en pleine vé tation, et elles gardent leur curieuse symétrie bilatérale, ce qui donne d'ailleurs dans les corbei où nous les avons introduites à titre de présentation, un effet décoratif très original.

TABLEAU III. — EXPÉRIENCES DE BOUTURAGE SUR *Pinus Silvestris* ET *Picea excelsa*

| Dates | | Traitements | Nature des boutures (Bois de 1 an) | Résultats obtenus après 2 mois | 3 mois | 4 mois 1/2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 juin 1948 | Solutions | 200 mg/litre pendant 16 heures. | 25 Epicéas | 25 brûlées par les produits. | 25 mortes. | — |
| | | | 25 Pins sylv. | 25 idem. | 25 mortes. | — |
| | | 100 mg/litre pendant 16 heures. | 25 Epicéas | 25 brûlées | 25 mortes. | — |
| | | | 25 Pins sylv. | 25 idem. | 25 mortes. | — |
| | | 50 mg/litre pendant 24 heures | 25 Epicéas | 8 vivantes sans racine, 17 mortes. | 8 mortes. 17 mortes. | — |
| | | | 25 Pins sylv. | 25 brûlées. | 25 mortes. | — |
| | | 25 mg/litre pendant 15 heures | 25 Epicéas | 25 vivantes sans racine, | 14 vivantes dont 3 av. rac. 11 mortes. | 9 vivantes dont 6 av. rac 16 mortes. |
| | | | 25 Pins sylv. | 25 brûlées. | 25 mortes. | — |
| | | 25 mg/litre pendant 6 heures | 25 Epicéas | 25 vivantes sans racine, | Accident dû au transport aux Floralies Liégeoises | |
| | | | 25 Pins sylv. | 5 vivantes sans racine, 20 mortes. | 5 mortes. 20 mortes. | — — |
| 19 juil. 1948 | | 12,5 mg/litre pendant 15 heures | 15 Epicéas | 1 morte, 14 vivantes (6 av. racines) | 1 morte, 10 vivantes, avec racines, | 1 enracinée est morte. |
| | | | 25 Pins sylv. | 25 mortes. | 4 mortes. | — |
| | | 12,5 mg/litre pendant 6 heures | 15 Epicéas | 15 vivantes (13 av. rac.) | 11 enracinées, 4 mortes. | 11 enracinées — |
| | | | 25 Pins sylv. | 2 vivantes sans racine, 23 mortes. | 25 mortes. | — |
| | | Pâte 2 mg/g lanoline | 50 Epicéas | 50 mortes. | — | — |
| | | TÉMOINS dans liquide nutritif. | 40 Epicéas mis en sable ou terreau. | 22 vivantes (2 av. racines) 18 mortes. | 1 enracinée, 39 mortes. | 1 enracinée. — |

Il n'en va pas de même pour le traitement par la solution à 50 mg/litre où des boutures, même enracinées, se sont nécrosées par la suite, preuve que la concentration et la durée de trempage n'étaient pas correctes.

Le traitement à la pâte de lanoline agit beaucoup plus lentement ; pourtant, trois mois après traitement, 23 boutures sur 24 (bois de 1 an ou bois de 2-3 ans) ont pris racines et ne manifestent aucun symptôme de nécrose.

Bouturage de *Pinus sylvestris* L. (Pin sylvestre) et de *Picea excelsa* L. (Epicéa).

Pour ces deux plantes, seules des pousses de l'année ont été utilisées par suite du manque de place dans nos serres expérimentales. Elles ont été traitées (et aux mêmes dates) exactement comme *Chamaecyparis,* Houx et *Magnolia.* De plus, dans les essais du 19 juillet, nous avons utilisé des concentrations et des durées de trempage plus faibles.

On lira au tableau III les résultats obtenus.

Toutes les boutures de Pins sont mortes, les boutures traitées ont péri plus rapidement encore que les témoins. Cependant certains auteurs, et notamment Thimann et Delisle (1939), ont obtenu des résultats encourageants.

Etant donnée l'importance économique des Pins, et particulièrement du Pin maritime, nous reprendrons cette étude dans des conditions expérimentales rigoureuses. Grâce à l'obligeance des services forestiers de la Flandre Occidentale que dirige M. l'Inspecteur Provis, nous pensons disposer dans quelque temps de plusieurs centaines de pousses diverses de Pin maritime qui nous permettront de pousser plus avant nos expériences.

Pour l'Epicéa, la concentration de 12,5 mg par litre appliquée pendant 16 ou 6 heures a donné quelques résultats encourageants (voir aussi Diagramme I). Cependant, certaines boutures *enracinées* ont manifesté des phénomènes de nécrose et sont mortes en cours d'expérience.

* * *

Le lecteur pourra se rendre compte, par les résultats exposés ici, que la technique d'utilisation des hormones végétales constitue réellement pour les praticiens une méthode extraordinairement féconde qui ouvrira à l'horticulture et à l'agriculture des horizons et des débouchés nouveaux, à condition d'être appliquée dans des conditions connues et avec suffisamment de soins [1].

Université de Liége.
Laboratoire de Physiologie végétale
et Centre de Recherches des Hormones végétales [2].

---

1. Les expériences ont été réalisées avec l'aide dévouée de M. Delrez, Jardinier en chef au Jardin de Botanique de l'Université de Liége, et de M. Ciselet, Technicien du Centre de Recherches des Hormones végétales.
2. Le Centre de Recherches des Hormones végétales est subsidié par l'I. R. S. I. A., par la Province de Liége et divers groupements.

Extrait du *Bulletin Horticole*,
vol. IV, n° 3, pp. 67-73,
Liège 1949.

Maison Desoer - 20097

# A PROPOS DU PROBLÈME DE LA RHIZOGENÈSE

par **R. BOUILLENNE** et **M. BOUILLENNE-WALRAND.**

En 1938, nous avons eu l'occasion d'entretenir la Société Royale de Botanique des résultats de nos expériences sur la rhizogenèse.

A ce moment, le problème se présentait comme ceci :

La proposition de l'hypothèse d'un complexe substantiel déterminant l'organisation des racines, complexe nommé rhizocaline, de nature hormonale, élaboré dans les feuilles et transporté polairement, avait été faite en 1933 par R. BOUILLENNE et WENT sur la base de recherches établies les unes sur des plantules de *Impatiens Balsamina L.* et les autres sur des boutures de tiges de *Acalypha Wilkesiana* et *A. hispida*.

Cette hypothèse avait été contestée par THIMANN et WENT lorsque ceux-ci, en 1934, ayant tenté d'isoler la rhizocaline, trouvèrent que la substance extraite était l'auxine ; ils avaient de plus constaté que les auxines extraites ou obtenues par synthèse comme l'acide indol-acétique ou hétéroauxine, avaient une action sur la rhizogenèse des boutures.

Ces observations avaient été largement confirmées lorsque ZIMMERMANN et ses collaborateurs avaient montré que les homologues de l'acide indol β-acétique comme l'acide indol β-butyrique etc... avaient une action nettement rhizogène et proposaient une technique féconde concernant le bouturage d'un grand nombre de plantes. De telle sorte que la nécessité d'un complexe rhizogénique avait été abandonnée par la plupart des auteurs.

Or, dès 1935, nous avions réussi à démontrer que les auxines ne pouvaient pas être considérées comme facteur rhizogénique en soi, mais bien comme des activants du métabolisme et comme révélateurs de potentialités rhizogéniques particulières. En 1938, nous avions pu communiquer à la Société Botanique que des hypocotyles d'*Impatiens Balsamina* ayant été inanitiés par une technique précédemment mise au point, ne réagissaient pas à des doses diverses d'auxines même en présence de sucre, d'acides aminés et de vitamines diverses.

Depuis cette époque un certain nombre de nos collaborateurs travaillant les mêmes questions ont pu montrer que les auxines n'ont d'action rhizogénique sur les boutures que pour autant : 1) que les auxines soient utilisées en concentrations très fortes, non biologiques ; 2) que ces boutures soient munies de feuilles et que ces

Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique, Tome 82, p. 41 (1949).

feuilles soient à la lumière. En effet, Moureau (1941) a clairement prouvé que des boutures de tiges de *Coleus* ne présentent pas de racines sous l'action de l'hétéro-auxine, lorsqu'elles sont dépourvues de feuilles, ou bien encore lorsque, munies feuilles, elles sont à l'obscurité complète (et nourries artificiellement).

Delarge également (1941), travaillant sur la culture in vitro des racines de Maïs en solution minérale glucosée, ou bien en solution minérale glucosée avec extrait de levure, a mis en évidence que l'action des auxines se limitait tout particulièrement aux zones méristématiques des racines en voie de croissance.

Nous voudrions rappeler ici une expérience importante de cet auteur : elle consiste à continuer la culture de racines ayant subi l'action de l'auxine pendant quelques heures. Ces racines replongées dans un milieu favorable continuent leur croissance qui avait été bloquée par l'effet de la trop forte concentration des auxines. Les racines latérales extrêmement nombreuses qui avaient apparu sur le méristème s'allongent également. Une deuxième application d'auxines ne provoque plus de formation radiculaire ni sur le méristème principal, ni sur les méristèmes latéraux, ce qui démontre que dans les racines cultivées in vitro il n'existe pas une capacité indéfinie de produire des racines latérales et que cette capacité est rapidement épuisée par l'influence répétée d'auxines.

Rappelons aussi les résultats de dosage d'auxine que nous avons réalisé au cours de la germination des plantules de *Impatiens Balsamina* (1939) ; les quantités d'auxines existant dans les graines au départ s'épuisent rapidement et les hypocotyles tenus constamment en obscurité totale *qui cependant font un certain nombre de racines adventives* ne contiennent plus d'auxines dosables.

Nous en sommes donc arrivés à conclure que les auxines ne sont pas des substances rhizogéniques en soi, puisqu'elles n'existent pas en quantités dosables dans des hypocotyles d'*Impatiens Balsamina* aptes à former des racines nouvelles et qu'elles ne révèlent leurs aptitudes rhizogéniques que lorsqu'elles sont appliquées en forte concentration sur des organes qui sont munis de feuilles et qui sont ou ont été placés à la lumière.

De même, Went , en 1938, s'était rallié à l'hypothèse première de la rhizoealine et avait proposé que le complexe rhizocaline devait nécessairement réagir avec l'auxine pour devenir actif (preparatory-reaction).

Cet auteur accepta donc comme nous, l'hypothèse de travail postulant l'existence d'un complexe substantiel, de nature hormonale, synthétisé dans les feuilles, circulant dans les tiges de manière polaire ; il proposa, en outre, que ce complexe réagissait avec l'auxine et permettait l'apparition de racines nouvelles.

* * *

Dans les expériences communiquées en 1938 et dont nous avons pu, grâce à l'obligeance de la Société Botanique, publier de nombreux clichés, on peut voir que les auxines n'augmentent pas de manière appréciable le nombre des racines sur les hypocotyles inanitiés de *Impatiens Balsamina* (Root test), mais que les auxines agissent en augmentant le nombre de racines sur les hypocotyles non inanitiés (Voir tableau I).

TABLEAU I.

| Action rhizogénique de Hétéroauxine sur : | Matériel vivant longtemps en solution de sucrose 15 °/₀₀ | Faible concentration 10 γ ($10^{-7}$) Biologique | Forte Concentration 1, 5, 10 mg. et plus /Litre Réactionnelle |
|---|---|---|---|
| Plantules *Impatiens Balsamina* Root-test inanitiés | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina* Hypocotyles inanitiés | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina* Epicotyles inanitiés | Sucrose | Action : o | Action : o |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina* Hypocotyles non-inanitiés | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes adultes *Impatiens Balsamina* Epicotyles non-inanitiés | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes jeunes étiolées *Pisum.* Epicotyles (*Went*) | Sucrose | Action : o | Action : + |
| Plantes adultes. Boutures. | Pas de Sucrose | Action : o | Action : + |

o = autant de Racines que sur les témoins.
+ = plus de Racines que sur les témoins.

Il en est d'ailleurs de même pour les épicotyles de cette plante. Nous confirmons la manière de voir de WENT pour les épicotyles non-inanitiés de *Pisum* où le facteur rhizogénique est redistribué par les auxines vers les endroits d'application.

Dès lors, il ne paraît pas douteux que, dans les organes non inanitiés, les auxines ont une action mobilisatrice d'un facteur qui disparaît par inanition. Lorsque ce facteur est éliminé, les auxines sont sans effet sur le nombre des racines formées.

Cette conclusion vient éclairer des expériences antérieures de COOPER (1935-36) réalisées sur les boutures de Citrus. Les témoins de Citrus font très peu de racines à leur base. L'application d'hétéro-auxine sur cette base augmente nettement le nombre de racines nouvelles. Lorsque cette base est amputée, que la bouture est traitée à nouveau par une même dose d'hétéro-auxine, les boutures ne réagissent plus et les quelques racines qu'elles forment ne sont plus pas nombreuses que celles apparues sur les témoins.

* * *

Nous avons recherché les constituants d'un milieu biologique complet qui pourraient remplacer le facteur rhizogénique mobile disparaissant par inanition et réagissant avec l'auxine.

Nous avons antérieurement prouvé que le facteur mobile n'est pas le sucre, ni les acides aminés, ni les vitamines diverses que nous avons essayées, ni les microaliments, ni les oligo-éléments. Ils contituent un milieu complexe ayant une action extrêmement favorable sur la survie des tissus des hypocotyles ou des épicotyles inanitiés. C'est ainsi que nous avons pu maintenir des cultures en parfait état pendant 90 jours et plus et que les racines peu nombreuses apparues sur ces organes se sont allongées jusqu'à mesurer plus de 13 cm.

Il semble résulter de ces expériences que le facteur rhizogénique mobile n'est pas un facteur nutritif et que l'hétéroauxine ajoutée à ce milieu complet n'active en aucun cas la rhizogénèse, que le traitement soit appliqué à faible ou à forte concentration. (Voir Tableau II).

## Tableau II.

### Recherches des constituants d'un milieu qui pourrait remplacer le facteur rhizogénique mobile dans les root-test inanitiés.

Matériel vivant très bien pendant 90 jours.

| | | |
|---|---|---|
| Root-Test inanitiés | Eau (Expérience Témoin) | 0 R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose | 19 R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + Hétéroauxine : 2,5 mg/l. | 23 R. |
| | » 5, mg/l. | 19 R. |
| | » 10, mg/l. | 19 R. |
| | » 15, mg/l. | Toxique |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + Ac. Am. 10 mg/l. | 25 $_{(20)}$ R.* |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + $B_1$. | 14 $_{(40)}$ R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + Ac. Am. + $B_1$ | 16 $_{(40)}$ R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + Hétéroauxine 10 mg/l. (24h) + Ac. Am. + $B_1$. | 22 R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose — milieu complet : microaliments Ac. Am. etc... | 22 $_{(40)}$ R. |
| Root Test inanitiés | Eau + Sucrose + milieu complet. + Hétéroauxine 10$\gamma$ | 20 $_{(40)}$ R. |
| Root-Test inanitiés | Eau + Sucrose + milieu complet | |
| | + Hétéroauxine 1 mg/l. (12 h) | 17 R. |
| | » 10 mg/l. | 17 R. |
| | » 50 mg/l. | Toxique |

(*) Le chiffre ( ) donne la longueur en mm. de la plus longue des racines, obtenue dans chaque culture.

* * *

Or, dans toutes les expériences réalisées sur hypocotyles et épicotyles inanitiés, en présence ou en absence d'hétéroauxine, nous avons mis en évidence qu'un certain nombre de racines apparaissait régulièrement (20-30 racines en moyenne).

Ces racines apparaissent sur toute la longueur pour que peu l'atmosphère de la culture soit humide. Cette constatation nous paraît extrêmement importante car elle démontre que si l'inanition enlève un facteur rhizogénique mobile réagissant avec l'auxine, elle n'en laisse pas moins, en place, tout le long des hypocotyles, un facteur rhizogénique ne réagissant pas avec l'auxine et pouvant faire 20 à 30 racines au moins quand le milieu nutritif n'est pas limitant.

* * *

Nous avons donc été amenés à étudier les deux aspects de la question :

Quel est le facteur rhizogénique mobile naissant dans les feuilles à la lumière, circulant polairement vers le bas, mobilisable par l'auxine et, suivant Went, se combinant avec celle-ci ?

Quel est le facteur rhizogénique fixé résistant à l'inanition, ne réagissant pas avec l'auxine et caractérisant les tissus des root-test d'*Impatiens Balsamina*, de même que les épicotyles de *Pisum* et les boutures traitées par Cooper, Bouillenne, Moureau, etc...

### A. — *Facteur rhizogénique mobile.*

Nous savons assurément qu'à l'état naturel, ce facteur vient des feuilles et est synthétisé à la lumière. L'un de nous a démontré qu'il provoque une néoformation radiculaire au prorata du nombre des feuilles et R. Noël a confirmé ce point de manière convaincante tout récemment dans notre laboratoire.

Ce facteur est mobilisé par l'hétéro-auxine vers les endroits d'application, soit vers le bas, soit même aussi vers le haut lorsque l'application est faite sur l'extrémité supérieure d'un hypocotyle ou d'un épicotyle.

Certaines expériences récentes faites à Liège sur le développement du Fraisier, par Cyrille Sironval, ont montré que l'apparition des racines est en connection avec l'apparition de certaines substances dans des poils glandulaires des feuilles.

Ces substances quittant les poils glandulaires se répandent dans les cellules épidermiques et sous-épidermiques, et prises par le courant circulatoire vers la base des hypocotyles, elles y conditionnent très clairement la formation de racines à des endroits qui correspondent à une concentration, toujours la même, de ce produit.

L'analyse microchimique montre qu'il s'agit de complexes substantiels liés à un noyau diphénolique en position ortho (1).

S'agit-il réellement de la substance active ou d'une substance résultant d'une combinaison de laquelle la rhizogénèse est induite ? Nous ne pouvons encore rien affirmer mais il paraît bien clair qu'un ortho-diphénol est connecté avec les phénomènes de la rhizogénèse provoqués par un facteur mobile.

### B. — *Facteur rhizogénique fixé.*

Ce facteur n'est pas mobilisable par le processus de l'inanition, ni par l'action de l'hétéro-auxine en forte concentration. Il est dispersé dans toute la hauteur des root-test car les 20-30 racines que l'on observe habituellement, en milieu nutritif favorable, se présentent tout le long de l'axe si l'atmosphère est suffisamment humide ou bien si l'axe est lui-même découpé en fragments.

L'un de nous, en 1933, a pu mettre en évidence que le nombre de racines apparues sur les fragments était proportionnel avec la longueur de ceux-ci.

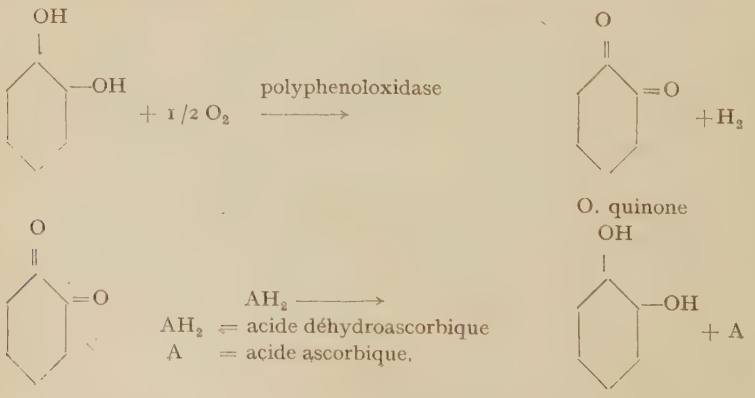
Il ne paraît pas possible d'échapper à l'évidence que ce facteur est cellulaire et qu'il doit exister nécessairement dans les cellules qui sont le point de départ des méristèmes nouveaux de racines (1939).

D'ailleurs, les anatomistes qui ont, à la suite de Van Tieghem, étudié parfaitement l'origine des racines latérales ont établi que celles-ci naissent à partir du péricycle du cylindre central dans les racines principales, des péricycles des faisceaux libéroligneux de tiges et de feuilles et, quand il y a formation de tissu secondaire, à partir des cambium.

Les morphologistes ont toujours mis l'accent sur le fait que les racines se forment

---

(1) Il est intéressant de noter que Arnon vient récemment de démontrer la présence, dans les chloroplastes de *Beta vulgaris* d'une catecholase (polyphenol-oxydase ou tyrosinase) qui en présence de catechol comme catalyseur (ou transporteur d'hydrogène) réalise l'oxydation de l'acide déhydroascorbique en acide ascorbique.



dans des tissus déterminés et les auteurs anglais, à la suite de PRIESTLEY, insistent encore aujourd'hui sur ce point.

Donc à propos du facteur fixé qui nous occupe dans la rhizogenèse, nous rejoignons les points de vue morphologiques.

* * *

Pouvons-nous pousser au point de vue physiologique l'analyse de ce facteur fixé, et d'abord, sommes-nous certains que le potentiel rhizogénique des root-test inanitiés est épuisé avec la formation des 20-30 racines observées sur des root-test entiers ?

Ce potentiel n'est pas épuisé car si on fragmente les hypocotyles on provoque des mitoses et un nombre considérable de racines supplémentaires, que celles-ci soient visibles ou qu'elles soient microscopiques, comme R. NOEL l'a mis en évidence. Cet auteur a pu fragmenter des hypocotyles d'*Impatiens Balsamina* en morceaux aussi petits que 1 mm. de hauteur. Ces fragments placés dans le liquide nutritif complet, augmenté d'hétéro-auxine en concentration biologique, parviennent à se maintenir en survie parfaite pendant plus de trois mois et font apparaître chacun des racines en néoformation : une racine par millimètre de hauteur et, en général, quatre racines par fragment de un millimètre. La somme des racines apparues sur tous les fragments d'un hypocotyle est plus grande que le nombre de racines apparues sur l'hypocotyle entier. Ce potentiel est jusqu'à présent le maximum observable, étant donné qu'il est impossible de maintenir en survie des fragments plus petits.

Si l'on compare les résultats obtenus par la fragmentation des root-test qui ont subi une inanition préalable, aux résultats donnés par la fragmentation des hypocotyles non-inanitiés, NOEL a constaté que les non-inanitiés font au total 117 racines tandis que les inanitiés font 70 racines.

La conclusion est que dans les hypocotyles non-inanitiés, il existe un potentiel rhizogénique supplémentaire de 40% venant s'ajouter au potentiel rhizogénique fixé dans les hypocotyles inanitiés. Ces 40 % correspondent à la présence du facteur mobile pouvant disparaître par inanition.

* * *

Comment expliquer ces faits contradictoires ? Les racines apparaissent pour 60 % à l'intervention d'un facteur fixé déterminant la destinée radiculaire des cellules de certains tissus et pour 40 % à l'intervention d'un facteur mobile également rhizogène venant des feuilles.

La théorie que nous avons proposée en 1945 concilie parfaitement les faits qui ne sont, selon nous, contradictoires qu'en apparence.

Le facteur rhizogénique ou rhizocaline postulée naguère est un facteur complexe de différenciation radiculaire constitué au moins de trois éléments différents :

1) Un facteur mobile, de nature hormonale, venant des feuilles, à la lumière.

2) Les auxines, synthétisées également dans les feuilles, emmagasinées dans les bourgeons et les graines.

3) Un facteur cellulaire existant seulement dans certaines cellules et, dans ces cellules, réalisant la réaction qui combine le facteur mobile et les auxines. Ce facteur fonctionne donc comme un facteur de localisation.

Quand a lieu cette réaction ? Lorsque les trois facteurs sont en présence, c'est-à-dire dans les hypocotyles au moment de la formation de l'embryon, dans les tiges et dans les racines au moment des processus de différenciation méristématique.

Quel est le type de réaction ?

On pourrait imaginer que le facteur cellulaire jouerait le rôle d'un catalyseur, peut-être de type enzymatique ; il serait, selon nous, synthétisé dans les embryons et dans les méristèmes et il serait distribué comme par un processus de localisation germinale, tel qu'on le trouve au début de l'embryogénèse animale. Il pourrait être lié aux gênes comme nous l'avons suggéré en 1949 et comme PREVOT l'a postulé dans les cas des bourgeons néoformés apparaissant sur *Begonia Rex*.

La combinaison de fixation, grâce à ce corps, se ferait au cours de l'embryogénèse, progressivement, au prorata de l'arrivée du facteur rhizogénique mobile et des auxines, mais ensuite au cours de la croissance méristématique ainsi que de la formation du cambium. La combinaison de fixation pourrait se faire dans toute nouvelle cellule qui aurait reçu le facteur de fixation au prorata de l'arrivée des deux autres facteurs. (Voir schémas). Les auxines joueraient le rôle de coenzymes.

Là, où la combinaison a eu lieu, les auxines ajoutées supplémentairement ne sont pas actives et, de plus, il n'est pas possible d'en extraire. Là, où la combinaison n'est pas encore faite, les auxines ajoutées sont actives, comme par exemple dans les méristèmes des racines, cultivées in vitro, d'après DELARGE. Mais il peut y avoir dans ce cas d'autres facteurs limitants que les auxines, soit l'élément cellulaire enzymatique lui-même soit le facteur mobile rhizogénique venant des feuilles.

Peut-on imaginer des cas où les trois facteurs sont déficients ? Rappelons une expérience de DELARGE réalisée en 1935 sur *Crinum Capense* et publiée dans le Bulletin de la Société de Botanique. Elle pourrait répondre à la question.

La germination des jeunes bulbes de cette espèce fait apparaître successivement des feuilles et les racines. L'auteur ayant supprimé les feuilles et les racines à mesure de leur apparition et cela, pendant plusieurs mois, a obtenu le résultat que la tige n'a plus produit ni feuilles, ni racines ; et comme les réserves du bulbe étaient loin d'être épuisées, il s'est produit une prolifération cellulaire intense en forme de cals, soit du côté racines, soit du côté bourgeons ; l'analyse de ces cals a révélé que les cellules nouvelles abondamment formées sont de type uniquement conjonctif et ne manifestaient plus de structure différenciée : les facteurs de différenciation sembleraient dans cette expérience avoir été épuisés par les amputations successives des feuilles et des racines.

Cette conclusion tirée du travail de DELARGE nous a paru longtemps audacieuse, mais elle vient cependant d'être confirmée par une expérience du Professeur WARDLAW, parue en 1947 dans Philosophical Transactions of the Royal Society of London et dans laquelle cet auteur a obtenu un résultat identique en supprimant

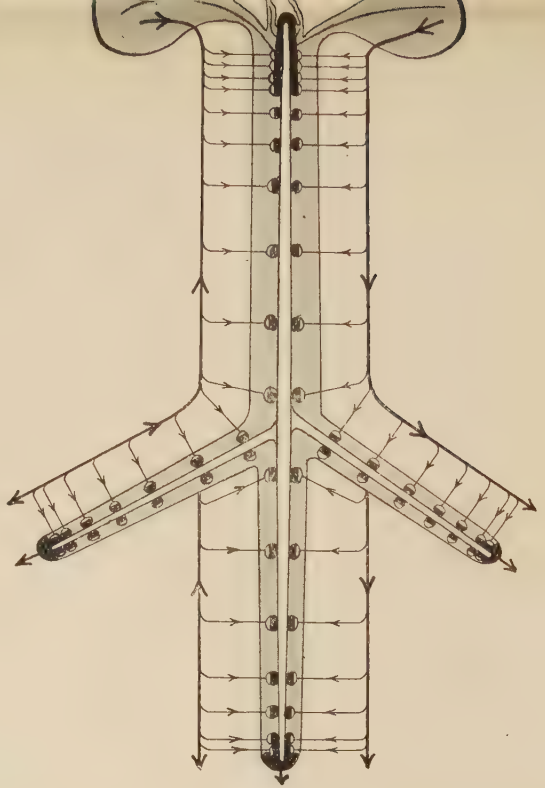


*Schéma d'une plantule au stade cotylédonnaire.*

A partir des cotylédons, le facteur rhizogénique mobile et les auxines faisant parties des réserves circulent vers les méristèmes des racines et vers le méristème de la gemmule.

Il y a combinaison du facteur rhizogénique mobile avec le facteur cellulaire partout où ce dernier est localisé (en noir, trait épais) c'est-à-dire dans les cellules à partir desquelles les péricycles sont formés. Cette combinaison se fait en présence des auxines agissant comme co-enzymes.

Elle est la première réaction de la chaîne des réactions déter-

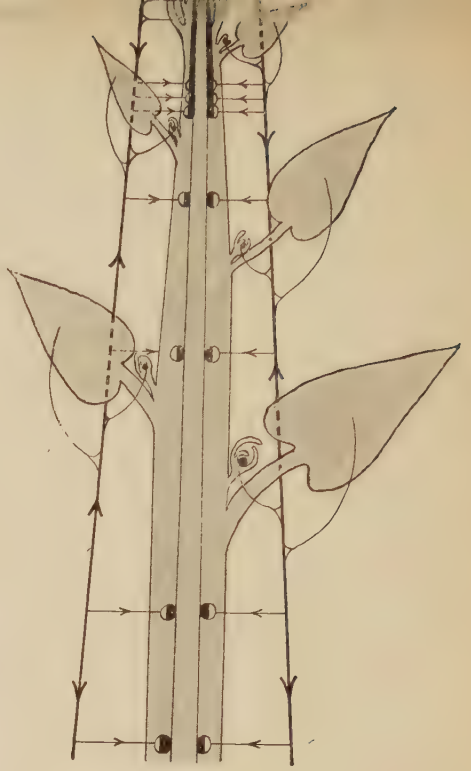


*Schéma de l'extrémité d'une tige avec le point méristématique.*

A partir des feuilles où se font, à côté de la photosynthèse, les synthèses du facteur rhizogenique mobile et des auxines, se produit une circulation vers le bas, comme vers le haut de ces deux catégories de corps.

Partout où le long des tissus vasculaires libériens ces deux corps rencontrent des cellules contenant le facteur cellulaire de fixation, la première réaction de la chaîne des réactions aboutissant à la différenciation des racines a lieu (en noir, trait épais). Il s'agit de cellules libériennes et des cellules de cambium lor-

à mesure de leur apparition les racines et les feuilles formées par le rhizome d'une fougère *Dryopteris aristata* Druce. L'extrémité de la tige au bout d'un certain temps s'est transformée en un cal indifférencié, proliférant abondamment.

* * *

La technique de culture des tissus végétaux et les expériences physiologiques réalisées par les spécialistes français, le Prof. R. Gautheret et son collaborateur G. Camus ont fait faire un nouveau progrès à ce problème de l'épuisement du complexe rhizogénique :

1) Des cultures de tissus de racines de *Daucus carota* L., en repiquages successifs sur milieux nutritifs complets, pourvus d'hétéroauxine donnent des racines de néoformation, pendant un certain nombre de repiquages seulement; les subcultures suivantes continuent à prospérer dans le même milieu nutritif mais ne donnent plus une seule racine ; tout comme dans les expériences rappelées ci-dessus de Delarge et de Wardlaw.

2) Sur ces mêmes subcultures, ayant perdu la possibilité de faire apparaître des racines de néoformation, Camus greffe au sommet un bourgeon. Lorsque les rapports vasculaires entre greffe et greffon sont établis et que le bourgeon a été exposé à la lumière, des racines apparaissent à l'extrémité de la culture opposée au bourgeon greffé.

* * *

Pour terminer nous dirons que les problèmes de l'organogénèse végétale auront dans l'avenir grands profits dans les résultats obtenus par les travaux sur la culture des tissus et nous formulerons notre point de vue actuel en concluant que, selon nous, la production de racines à partir de certaines cellules exige la présence dans ces cellules d'au moins trois facteurs ; un facteur rhizozenique mobile, venant des feuilles ou des réserves ; des auxines agissant vraisemblablement comme coenzymes ; un facteur cellulaire déterminant une réaction de fixation du facteur rhizogenique. Cette réaction spécifique étant la première d'une chaîne de réactions aboutissant à la différenciation de la structure radiculaire.

Université de Liège.
Laboratoire de Physiologie Végétale et Centre d'étude des Hormones végétales (I. R. S. I. A).

Le 2 janvier 1949.

II.

# Sur l'utilisation du 2-4 D (2-4 acide dichlorophénoxyacétique) comme herbicide sélectif pour l'entretien des pelouses et des pépinières

par R. BOUILLENNE, M. BOUILLENNE-WALRAND, R. NOËL et C. SIRONVAL.

## NTRODUCTION.

DANS NOTRE PRÉCÉDENTE ÉTUDE sur les hormones végétales [1], nous avons classé les actions physiologiques des « hormones d'application » en deux catégories :

1. les actions activantes ;
2. les actions inhibitrices et toxiques,

nous avons étudié l'action activante de certains corps sur la formation parthénocarpique s Tomates.

Nous envisagerons aujourd'hui une manifestation de l'action toxique : la destruction ective de certaines plantes *dites mauvaises herbes*.

Il est curieux de constater que l'utilisation des « hormones d'application » comme herbi-es sélectifs est la conséquence d'une question posée aux biologistes américains par le War partment ; il s'agissait de mettre au point le projet de détruire les récoltes de riz japonais r des toxiques puissants à répandre par avion.

L'action en fortes concentrations des hormones végétales était déjà reconnue comme étant ique avant la guerre et *avait déjà désigné* celles-ci comme herbicides [2]. A ces substances est nue s'ajouter un nouveau dérivé acétique de la série phénolique : l'acide 2-4 dichlorophéno-acétique ou 2-4 D.

Contrairement à ce qu'en attendait le War Department, ces substances ne se sont pas ntrées toxiques aux Graminées (à quelques exceptions près) ; par contre, elles tuaient la part des Dicotylées. Leur utilisation s'est donc orientée vers le nettoyage des pelouses, amps de céréales, prairies, dont elles ont éliminé les mauvaises herbes dicotylées. C'est ncipalement le 2-4 D qui fut proposé à cet effet et utilisé.

*
* *

L'étude physiologique de l'action léthale du 2-4 D sur les végétaux a été entreprise par TCHELL et ses collaborateurs [3 4 5 6 7]. L'effet du 2-4 D n'est pas instantané mais implique processus lents (la mort survient après 21 jours par exemple chez *Ipomoea lacunosa*).

Le traitement des feuilles de Dicotylées au 2-4 D concentré y provoque une disparition ide des glucides (glucose, dextrine, amidon). De plus, cette réaction est transmise vers la e et les racines où elle détermine également la disparition des glucides. Le 2-4 D transloqué long des cellules vivantes du phloème est associé à la circulation des glucides, comme c'est exemple le cas pour les virus. La polarité basipète de ce transport de 2-4 D appliqué aux uilles est montrée par une expérience sur *Phaseolus* : une seule feuille reçoit le toxique, ui-ci ne remonte pas vers le sommet de la plante et ne passe même pas dans la feuille oppo- à la feuille traitée. Mais, il montre progressivement son effet léthal vers la partie inférieure la tige, les feuilles qui y sont fixées et les racines. D'autre part, lorsque les racines sont uchées directement, le toxique est entraîné vers le haut par le courant de la transpiration sant le long des tissus vasculaires du xylème et peut même remonter à travers les portions tiges mortes.

Les plantes traitées manifestent des processus respiratoires intensifiés (de 20 à 80 pour cent s considérables que la normale).

La mort semble donc résulter d'un excès des phénomènes métaboliques aboutissant à la parition des réserves alimentaires glucidiques.

*
* *

reste relativement sec, mais il s'altère rapidement par temps chaud et humide.

La *germination* des Graminées et des Dicotylées sur substratum préalablement mélangé arrosé de 2-4 D a été étudiée. Les Graminées souffrent dans leur croissance, mais se rétablissent tandis que les plantules de Dicotylées sont définivement atteintes. Le rétablissement des Graminées est plus rapide lorsque l'on additionne au produit actif des engrais azotés, de l'u et un fongicide organique comme le Diméthyl Thiocarbamate ferrique (Fermate).

*

* *

Comme nous l'avons déjà dit, l'utilisation des «hormones d'application» ne peut être préconisée qu'après avoir été minutieusement étudiée et mise au point, en tenant compte des facteurs externes qui caractérisent les régions cultivées.

J. MITCHELL et J. BROWN [8] ont montré, par exemple, que la qualité de la lumière a une influence notable sur l'intensité de l'action du 2-4 D sur les plantes, comme aussi la teneur en $CO_2$ de l'atmosphère ambiante. Expérimentant sur des Haricots, ils ont vu que le 2-4 D appliqué sur les feuilles est transporté le mieux à l'intérieur de la plante lorsque les conditions extérieures — lumière, température et $CO_2$ — favorisent la synthèse et les transports des glucides (matières sucrées) ; tandis qu'en lumière réduite et en absence de $CO_2$, le toxique est transporté beaucoup plus lentement et son action considérablement retardée.

*

* *

## A. ESSAI SUR PELOUSE.

Au mois de juin 1947, nous avons entrepris au Jardin Botanique de l'Université de Liége le traitement d'une jeune pelouse par trois concentrations de 2-4 D.

Le but de cette expérience est double :

*a)* déterminer les concentrations à appliquer pour obtenir dans nos régions une pelouse bien entretenue, sans nuire aux constituants de la pelouse ;

*b)* et principalement, observer les réactions de graines de Dicotylées, semées sur le terrain après rebêchage de la prairie ; autrement dit... les quantités de 2-4 D répandues sur la pelouse auront-elles une action sur des *cultures ultérieures ?*

On comprend tout de suite l'importance de ce dernier point, qui a d'ailleurs également retenu l'attention des chercheurs américains cités plus haut.

### *PREMIÈRE PARTIE DE L'EXPÉRIENCE.*

Le 12 juin 1947, sur une parcelle de terre de 75 $m^2$ du Jardin Botanique, on sème 2 l d'un mélange de :

40 % Ray grass (*Lolium perenne*).
20 % *Festuca pratensis* HUD.
10 % *Cynosurus cristatus* L.
10 % *Poa pratensis* L.
10 % *Agrostis vulgaris* WITH.
5 % *Alopecurus pratensis* L.
5 % *Phleum pratensis* L.

Sur le semis de Graminées, on répand systématiquement un mélange de Dicotylées :

*Centaurea cyanus* L. — Bluet.
*Cichorium Intibus* L. — Chicorée sauvage.
*Convolvulus arvensis* L. — Liseron des champs.
*Convolvulus sepium.* L. — Liseron des haies.
*Papaver Rhoeas* L. — Coquelicot.
*Plantago lanceolata* L. — Plantain lancède.
*Plantago major* L. — Plantain majeur.
*Ranunculus repens* L. — Renoncule rampante.
*Rumex acetosa* L. — Oseille.

Toutes ces graines ont germé *régulièrement.*

En même temps, des espèces dont les graines se trouvaient dans le sol ont germé de façon irrégulière. Voici la liste des espèces que nous y avons déterminées (Le nombre en est assez considérable vu la proximité des parterres des familles du Jardin botanique) :

*Achillea millefolium* L. — Mille feuilles.
*Amarantus sp.* — Amarante.

*Capsella Bursa pastoris* L. — Bourse de Pasteur.
*Chenopodium album* L. — Chenopode blanc.
*Digitaria sanguinalia.* — Digitaire.
*Euphorbia Peplus* L. — Euphorbe.
*Galinsoga parviflora* CAV.
*Linaria minor* DESF. — Linaire.
*Malval* probablement *rotondifolia* L. — Mauve.
*Malval* probablement *sylvestris* L.
*Mercurialis annua* L. — Mercurialis.
*Nicandra physaloides* GAERTN. — Faux physalis.
*Oxalis stricta.*
*Polygonum aviculaire* L. — Renouée.
*Polygonum convolvulus* L.
*Senecio vulgaris* L. — Seneçon.
*Silybum marianum* GARTN.
*Solanum nigrum* L. — Morelle noire.
*Sonchus asper* ALL. — Laitron.
*Ranunculus repens* L. — Renoncule rampante.
*Rumex sp.* — Oseille.
*Trifolium repens* L. — Trèfle rampant.
*Verbascum sp.* — Bouillon blanc.
*Setaria viridis.* — Sétaire vert.

Trois semaines après notre semis, la pelouse est divisée en quatre parcelles égales :
La parcelle I est gardée comme témoin.

Le 5 juillet 1947 vers 7,30 h. du matin par temps *sec* et *chaud*, les parcelles II, III et IV nt traitées par des solutions de 2-4 D * aux concentrations respectives suivantes :

parcelle II : 0,5 gr par litre ;
III : 1 gr par litre ;
IV : 2 gr par litre.

our chaque parcelle, 10 litres de solution aqueuse sont utilisées et répandues par le moyen d'un lvérisateur ordinaire.

Nous n'avons employé dans cet essai aucun des adjuvants généralement utilisés comme oyen de dispersion du produit actif : carbowax, etc.

Le 14 juillet 1947, soit 10 jours après le traitement, à peu près toutes les Dicotylées des rcelles traitées sont en train de faner. Seules les Graminées ont survécu et présentent une

* Le 2-4 D utilisé provient des Etats-Unis. C'est un produit commercial qui contient 40 % d'impuretés ; us en avons tenu compte pour le calcul des concentrations.

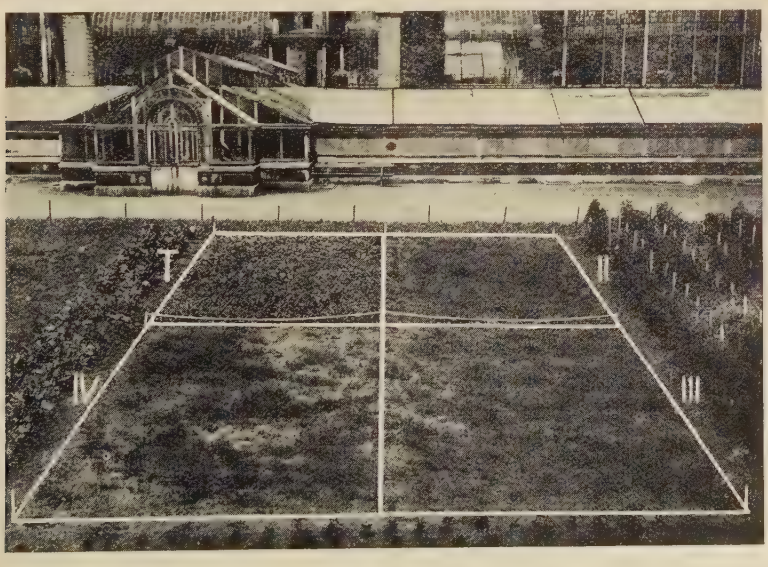



Photo 1.

lement la parcelle IV). Nous avons prélevé des échantillons de la plupart des Dicotylé
Toutes sont mourantes.

Sur les bords de la parcelle II, quelques germinations, en particulier de *Plantago lanceolat* sont encore vivantes ; elles ont été examinées spécialement. Ces germinations sont d'apparen normale, si on regarde uniquement le bouquet foliaire ; mais les racines subissent des déform tions très nettes. On constate la présence de boursouflures dans la zone subméristématique air que dans la région du collet ; des déformations radiculaires analogues sont obtenues courar ment lorsqu'on traite une racine par une dose trop élevée d'une des premières hormon végétales connues, l'acide Indol B acétique (DELARGE [9]).

Les racines des plantes traitées sont plus courtes que celles des plantes témoins et elles so très fragiles. Certaines parties brunissent et meurent.

Ces symptômes sont communs à toutes les autres espèces de Dicotylées expérimenté La déformation radiculaire est suivie par un flétrissement de feuilles. Finalement, les plant fanent et meurent.

Le 14 juillet, la pelouse présente l'aspect enregistré par la photo n° 1.

La première parcelle en haut, à gauche, constitue le témoin. Elle est envahie par les germ nations de Dicotylées. Les autres parcelles n° II (en haut, à droite), n° III (en bas, à droite) n° IV (en bas, à gauche) ne comportent presque exclusivement que des germinations Graminées.

La pelouse est « nettoyée » par l'action du 2-4 D. Les taches lépreuses, dans la parcelle I notamment, indiquent une ancienne tranchée creusée pendant la guerre. Au comblement, u partie de mauvaise terre est restée en surface.

Le 3 août, dans la parcelle n° I, les Graminées sont presque toutes étouffées par la vég tation des Dicotylées, tandis que dans les trois autres parcelles, les graminées occupent à p près tout le terrain, sont bien vivantes, mais manifestent un certain retard dans la floraiso (par rapport à la parcelle n° I).

La parcelle n° IV qui a reçu la concentration la plus forte de 2-4 D (2 gr °/∞) ne contie que des Graminées en végétation ; toutes les Dicotylées sont éliminées.

Les parcelles n$^{os}$ II et III qui ont reçu les concentrations faible (0,5 gr °/∞) et moyen (1 gr °/∞) contiennent encore des représentants d'un certain nombre d'*espèces dicotylées :*

18 dans le n° II
11 dans le n° III

mais les individus sont peu nombreux ; par exemple : *Mercurialis annua* L. figure dans parcelle n° I avec 170 exemplaires, 18 dans la parcelle n° II, 10 dans la parcelle n° III.

*Cichorium Intibus* L. se trouve dans la parcelle n° I témoin avec 30 individus tandis q la parcelle n° II en contient deux, la parcelle n° III aucun. *Plantago lanceolata* L. n'existe pl dans aucune parcelle traitée. *Polygonum sp.* existe en 41 exemplaires dans la parcelle n° I, u unique exemplaire dans la parcelle n° II et 4 plantes dans la parcelle n° III.

Quelques plantes de *Convolvulus* ont été réintroduites de l'extérieur pendant la durée l'expérience. Elles se sont développées normalement, et présentent un système radiculaire n déformé.

*
* *

Il est donc possible d'entretenir des pelouses à graminées en utilisant des concentrations 2-4 D comprises entre 0,5 gr et 1 gr °/∞. Une dose de 2 gr °/∞ élimine complètement Dicotylées, mais n'est pas nécessaire.

CONCLUSIONS.

Le 2-4 D *peut rendre de grands services pour l'entretien, sans grands frais, des pelou ornementales.* Dans ce cas, le retard dans la floraison des Graminées que nous avons consta ne constitue pas un inconvénient.

## *DEUXIÈME PARTIE DE L'EXPÉRIENCE.*

Le 6 août 1947, les quatre parcelles ayant servi à l'expérience précédente sont bêch à nouveau, puis laissées en repos.

Le 18 septembre, l'état des parcelles est le suivant :

Parcelle n° I témoin : nombreuses plantes de *Convolvulus arvensis* L., de *Mercuria Annua* L. et de *Malva sp.*

Les parcelles traitées n$^{os}$ II, III et IV sont dépourvues de plantes en germination, m

stème radiculaire ne subit pas de déformation.

A ce moment, on ratisse et on sème en rangées régulières alternées :

1) des Navets ;
2) de la Salade de blés.

La germination se fait régulièrement et synchroniquement dans les parcelles I, II, et III ; ec un peu de retard dans la parcelle IV. Le pourcentage des germinations est le même dans quatre parcelles.

L'état des parcelles à la fin d'octobre est figuré sur la photo n° 2. Les quatre parcelles raissent identiques.

Photo 2. Vue d'ensemble des quatre parcelles.

L'examen morphologique des plantes semées dans les quatre séries ne permet pas en novembre mettre en évidence des différences notables.

Le système radiculaire des plantes a le même aspect dans la parcelle témoin que dans les rcelles qui ont été aspergées au 2-4 D en juin.

Les feuilles sont de même forme dans les quatre parcelles. Elles sont aussi nombreuses dans parcelle témoin que dans les autres (le 24 novembre, nous comptons en moyenne 4 à 5 feuilles alées pour les Navets). On ne constate pas de jaunissement ou de flétrissement des limbes. comparaison de la photo n° 3 (parcelle I témoin) avec les photos n$^{os}$ 4, 5, et 6 (parcelles III et IV) montre que l'aspect des plantes est le même dans les quatre séries.

ONCLUSIONS.

Le « nettoyage » de la pelouse d'expérience avec diverses concentrations de 2-4 D, ntrave pas la végétation d'un semis de Dicotylées (Navets et Salade de blés) effectué sur même terrain, trois mois après le traitement par l'hormone d'application.

## ESSAI SUR PLANTATIONS DE CONIFÈRES.

vec la collaboration de M$^{lle}$ M. Thimus.)

Cette expérience a été réalisée le 23 juillet 1947, à peu près au milieu de la grande période sécheresse de cette année ; mais au moment d'une dépression cyclonique accompagnée de elques bourrasques, de pluies et d'orages. Le lendemain de l'expérience, il s'est abattu un petit age sur la pépinière expérimentée.

photos 3, 4, 5 et 6 représentent l'aspect de dix plantes de Navet, choisies au hasard dans chacune des quatre celles qui avaient été traitées au 2-4 D, trois mois avant le semis (voy. page 3).

la Salm. Elle est régulièrement sarclée mais est de grande étendue (4.000.000 de plant
Aussi, il y subsiste, surtout dans les parcelles de plants âgés, de nombreuses «mauvaises herb
en pleine vigueur au moment de notre essai.

Nous y avons relevé spécialement :

*Oxalis acetosella.* — Oxalis.
*Oxalis stricta.*
*Vicia cracca.*
*Senecio vulgaris.* — Seneçon.
*Cichorium Intibus.* — Chicorée sauvage.
*Plantago media.* — Plantain.
*Circium sp.* — Chardon.
*Euphorbia sylvatica.* — Euphorbe.
*Convolvulus arvensis.* — Liseron.
*Lamium album.* — Lamier.
*Teucrium Scorodonia.*
Mousses et Fougères diverses,

particulièrement abondantes en ce qui concerne *Pteris Aquilina* ou Grande Aigle. Celle-ci pr
vient d'un bois limitrophe de la pépinière. La pépinière est installée en partie d'ailleurs sur
terrain de défrichement de ce bois. Enfin, signalons la présence de quelques Graminées
surtout d'une Monocotylée particulièrement tenace et ennemie des horticulteurs : le Chiende

L'herbicide employé est le 2-4 D (acide dichlorophénoxyacétique). Il a été pulvérisé
moyen d'un pulvérisateur à dos, à pression, comme ceux que l'on emploie habituellement po
la pulvérisation des insecticides. Deux concentrations différentes ont été employées :

0,5 gr par litre et 1 gr par litre.

La *pulvérisation* s'est effectuée de façon aussi homogène que possible, entre 17 et 18 heur
par une chaude après-midi d'été.

Les *parcelles de Résineux* sur lesquelles nous avons appliqué la substance pour élimir
les « mauvaises herbes » sont les suivantes :

*Epicéas :* plants d'un semis du 13 mai, ayant donc 2 1/2 mois ;
plants de 3 ans ;
plants de 4 ans ;
plants de 5 ans.

*Pins sylvestres :* de 2 ans, repiqués en juin.
*Pins Douglas :* de semis du 12 mai ayant donc 2 1/2 mois.
*Pins argentés :* de semis du 12 mai ayant donc 2 1/2 mois.
Pour chaque espèce, l'expérience a été effectuée sur une superficie portant environ 200 plan
de Conifères.

RÉSULTATS.

Dans l'exposé des résultats, nous ne traiterons pas séparément les effets obtenus par chaq
concentration employée, l'effet s'étant révélé identique dans les deux concentrations.

1) *Après un jour :* Les Dicotylées citées plus haut, semblent fortement atteintes et tout spéci
lement *Cichorium Intibus*, *Plantago media* et *Senecio vulgaris* tandis que les Conifères
présentent aucun caractère anormal.

2) *Après deux jours :* L'atteinte s'est amplifiée et généralisée sur les Dicotylées et égalemer
sur les Fougères. Les Pins Sylvestres donnent, eux aussi, des signes de fanaison ; leu
aiguilles pendent vers le sol, alors que les aiguilles des plants non pulvérisés restent bi
droites.

3) *Après la première semaine :*

Les Dicotylées présentent l'aspect de plantes fortement brûlées ; cependant, elles ne so
pas complètement nécrosées. Les Fougères, par contre, sont complètement nécrosées
tombent sur le sol.

Quant aux Conifères, ils sont tous atteints par la pulvérisation. Les aiguilles de beaucou
de plants *surtout chez les plus âgés*, changent d'aspect, elles sont pendantes et, en ce q
concerne les Epicéas de 3, 4 et 5 ans et les Pins sylvestres de 2 ans, elles deviennen
jaunes, cassantes, en quelque sorte brûlées et elles se détachent facilement.

Chez tous les Conifères indistinctement, la croissance est fortement ralentie, voire mêr
complètement arrêtée, par rapport aux plantes témoins.

*De gauche à droite, et de haut en bas.* — Photo 7. Pins Douglas âgés de 6 mois. — Photo 8. Pins Sylvestres s de 2 ans. — Photo 9. Epicéas âgés de 6 mois. — Photo 10. Epicéas âgés de 4 ans. — Sur chaque photo, à che, plantes témoins (non traitées) ; à droite, plantes traitées au 2-4 D, trois mois et demi avant la photographie.

*Après 3 mois et demi :*

a) *Monocotylées :* ont toutes résisté, le Chiendent en particulier ;

b) *Dicotylées :* ont été fortement atteintes (brûlées) mais certaines d'entre elles ont cependant refait de nouveaux bourgeons ;

c) *Fougères :* la Fougère « Grand Aigle » particulièrement bien représentée dans le terrain a été complètement éliminée.

d) *Résineux :*

1) *Pins argentés :* les semis se sont révélés de mauvaise qualité ; il ne nous est pas possible de noter les résultats. Les témoins eux-mêmes ayant très mal poussé.

2) *Pins Douglas :* les plants ont maintenant six mois (voir photo 7). Les témoins ont une hauteur moyenne de *80 cm.* Les plantes pulvérisées ne mesurent que 2,5 cm ; la croissance a été arrêtée. Cependant, elles paraissent redevenues assez bien portantes ; les aiguilles sont vertes et résistantes.

3) *Pins sylvestres* (voir photo 8) : Presque toutes les plantes sont complètement brûlées. Elles sont âgées de 2 ans et 3 mois et demi. Les témoins sont hauts de 14 cm et les aiguilles longues de 11 cm. Les plantes traitées ont 8 cm et les aiguilles jaunes et cassantes ont 7 cm de longueur.

4) *Epicéas :*

a) *Plants de semis* (voir photo 9) : Pendant le premier mois qui suivit l'application de l'herbicide, la croissance des jeunes plants a été ralentie ; mais actuellement, ils ont regagné ce qu'ils avaient perdu et il n'est pas possible de constater une différence entre les témoins et les plantes pulvérisées.

b) *Plants de 3, 4 et 5 ans :*

Les résultats enregistrés sur les plants de ces trois âges étant identiques, nous les décrirons ensemble.

montrons des plantes âgées de 4 ans, ayant subi la pulvérisation, et des plantes même âge non traitées. On voit nettement la différence de hauteur entre ces témo (29 cm) et les pulvérisées (23 cm). De plus, dans de nombreux cas (trente pc cent environ), les aiguilles sont jaunes, brûlées ; elles sont cassantes et tombe C'est, comme nous l'avons dit, le cas pour les Pins Sylvestres.

## En résumé.

1) Le 2-4 D employé comme herbicide sur des gazons jeunes, nous a donné d'excelle résultats dans la destruction sélective des Dicotylées. Mais il s'est révélé inadéquat pc l'entretien d'une pépinière de Conifères, lorsqu'on emploie la méthode habituelle de la p vérisation sur toute la surface du terrain.

2) Les Conifères, quel que soit leur âge, résistent mal à l'action du 2-4 D, même en t faible concentration. Certaines espèces semblent presque complètement détruites (Pins S vestres, par exemple). Dans le cas des Epicéas, il semble que, plus la plante est jeune, mie elle résiste au traitement ; mais celui-ci lui est cependant nuisible.

3) L'action du 2-4 D est très intéressante dans l'élimination de la Fougère commu « Grand Aigle » dont les pieds sont souvent nombreux sur les terrains de forêts nouvel ment défrichés.

4) Le 2-4 D appliqué en une seule pulvérisation sur des Dicotylées très robustes, en ple végétation et fructification, ne les a pas détruites complètement.
Ces plantes ont résisté ; elles ont repris leur croissance et ont développé de nouveaux bou geons. Nous avons constaté la germination de graines en nouvelles plantules.

## Conclusions pratiques.

Etant donné l'action nocive du 2-4 D sur les Conifères, il ne faut pas l'appliquer sur terrain par pulvérisation lorsque les Conifères s'y trouvent déjà, soit à l'état de semis, soit l'état de plants plus âgés (de 1 à 5 ans comme c'est souvent le cas).

Cependant, les semis ou repiquages se faisant aux mois de mai-juin, il sera probableme intéressant de pulvériser la terre vierge, afin d'y détruire les jeunes « mauvaises herbes » dic tylées qui commencent à s'y développer. On épargnera ainsi un premier sarclage et on facilite à coup sûr, les suivants. Ce point sera d'ailleurs repris expérimentalement.

Une pulvérisation sur terre non plantée éliminera en tous cas les Fougères, qui colonise parfois assez fortement les pépinières. A cet égard, l'emploi du 2-4 D peut être intéressant.

## Bibliographie


1. R. Bouillenne, M. Bouillenne-Walrand, R. Noël et C. Sironval. Action de quelques substances de croissa ou hormones végétales sur la fructification des Tomates. *Bull. Hort.*, Liége II (10) : 291-299 ; 1947.
2. Lecrenier, A. Les hormones et leurs applications en horticulture. *Bull. Hort.*, Liège **6** : 144 ; 1946 — **1** : **2** : 34 ; **3** : 68 ; **4** : 100 ; **6** : 161 ; 1947.
3. Mitchel J. W., Davis P. P. et Marth P. C. — Turf weed control with plant grow regulators. *Golfdo* oct. 1944.
4. Marth P. C. et Mitchel J. W. — 2-4 dichlorophenoxyacetic acid as a differential herbicide. *Bot. Gaz.* **10** 224-232 ; 1944.
5. Mitchel J. W. et Marth P. C. — Effect of 2-4 dichlorophenoxyacetic acid on the growth of grass plan *Bot. Gaz.* **107** : 276-284 ; 1944.
6. Mitchel J. W. et Brown J. W. — Effect of 2-4 D on the readily available carbohydrates constituents annual morning glory. *Bot Gaz.* **107** : 120-129 ; 1945.
7. Mitchel J. W. et Marth P. C. — Germination of seeds in soil containing 2-4 dichlorophenoxyacetic ac *Bot. Gaz.* **107** (N° 3) : 408-416 ; 1946.
8. Mitchel J. W. et Brown J. W. — Movement of 2-4 dichlorophenoxyacetic acid stimulus and its relation the translocation of organic food materials. *Bot. Gaz.* **107** (N° 3) : 393-407 ; 1946.
9. Delarge L. — Etudes de la croissance et de la ramification des Racines in vitro. *Mémoire*. Soc. Roy. Scienc Liège **2** (V) : 1941.


Maison Desoer - 7558.

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1948

# EXPÉRIENCE

sur

# L'ISOLEMENT ET LA FLORAISON DES PLANTS

de

## *FRAGARIA VESCA* L. var. *SEMPERFLORENS* DUCH.

par

**Cyrille SIRONVAL** Lic. Sc.

La croissance des bourgeons axillaires donne naissance, chez les Fraisiers, à des organes spéciaux : les stolons ; quelques espèces seulement, par exemple, certaines variétés du Fraisier des quatre-saisons, font exception.

La formation des stolons a lieu en trois temps :

On observe d'abord, à partir de l'aisselle d'une feuille, la croissance d'une tige, le f i l e t, portant à son extrémité le méristème du bourgeon. Cette tige s'allonge sur le sol.

Ensuite, l'extrémité du filet se redresse. Le méristème terminal, caché dans une première feuille réduite, en construit une seconde, trifoliée, qui grandit et s'étale.

Enfin, des racines apparaissent le long du filet, juste sous la feuille réduite , tandis que le méristème foliaire continue son activité.

On obtient, en peu de temps, u n e m a r c o t t e n a t u r e l l e bien enracinée, capable de propager l'espèce. De cette marcotte partiront d'autres stolons selon un processus constamment identique.

Ainsi, une plante de Fraisier obtenue de semis donne naissance à des stolons le long desquels un grand nombre d'autres plantes se forment. On tire un grand parti, dans la pratique, de cette propriété. Le praticien utilise les marcottes les plus vigoureuses — les bons « p l a n t s » — pour propager l'espèce qu'il cultive.

La plante dont les stolons sont issus constitue la « p l a n t e - m è r e » ou aussi le « p i e d - m è r e » des « plants ».

H. T. HARTMANN a publié, en octobre 1947, dans *Plant Physiology* un article où il étudie les conditions de la floraison des « plantes-mères » et des « plants » chez le Fraisier américain « Missionnary Strawberry ».

Il montre notamment que même si la photopériode est défavorable à leur floraison, « les plants » fleurissent lorsqu'ils sont en contact par le filet avec une plante-mère cultivée en photopériode convenable, et, par conséquent en fleurs.

**Tout se passe comme si la plante-mère pouvait provoquer la floraison des plants.**

Nos recherches sur le « Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges » nous conduisent à des conclusions du même genre.

Nous exposons ici une expérience réalisée au cours de l'été 1948 dans le **but d'étudier le rôle joué par la « plante-mère » de ce Fraisier dans la floraison des jeunes « plants ».**

## 1. PLAN DE L'EXPÉRIENCE

Nous avons mis en œuvre le **schéma expérimental suivant :**

On sépare de la « plante-mère » de tout jeunes plants, en sectionnant le filet à quelque 5 cm. du plant (Pl. 1 fig. 1). Cette opération a lieu lorsque l'extrémité du filet se redresse, c'est-à-dire lorsque les premières feuilles du plant apparaissent. Une méthode de culture appropriée permet d'élever les jeunes plants en dehors du moindre contact avec la « plante-mère ».

Les plants isolés sont comparés à des plants témoins qui restent en contact par le filet avec des plantes-mères en fleurs.

Les plants « isolés » et « témoins » sont élevés dans les mêmes conditions de température et d'éclairage, celles de l'extérieur, côte à côte, dans la même terre. Ils ont au départ le même nombre de feuilles (1, 2 ou plus rarement 3), la même vigueur, un système radiculaire équivalent. Les plantes-mères des plants sont du même âge ; elles proviennent du même semis d'un an ; elles sont toutes en fleurs.

On observe et on compare, au jour le jour, le développement des plants « isolés » et « en contact », en particulier en ce qui concerne leur floraison.

## 2. TECHNIQUE DE CULTURE DES JEUNES PLANTS ISOLÉS

La culture des jeunes plants isolés est particulièrement difficile dans les huit jours qui suivent l'isolement. Nous avons mis au point une technique qui permet de franchir cette étape délicate.

Lorsque nous sectionnons le filet, les jeunes plants de trois feuilles ont généralement deux ou trois petites racines ; les plants d'une ou deux feuilles en sont dépourvus. Isolés, ils sont très sensibles à la sécheresse : un séjour de

quelques heures à l'air libre, à même le sol, est mortel, même par temps couvert et humide.

Nous évitons la mort en plaçant les jeunes plants, au moment de leur isolement, dans des bocaux cylindriques de 10 cm. de diamètre, de 13 cm. de hauteur, couverts, et dont le fond est garni d'ouate tapissée de papier filtre. L'ouate et le papier filtre, imbibés d'eau ordinaire, maintiennent l'atmosphère humide. Les plants reposent sur le papier filtre et sont exposés à la lumière naturelle, à l'extérieur. Nous recouvrons d'une claie afin d'éviter toute élévation de température qui pourrait résulter de l'incidence des rayons solaires directs.

Après huit à dix jours, les plants se garnissent ainsi de nombreuses racines dans la majorité des cas. Nous repiquons alors en terre, en couche, et nous amenons progressivement à l'air libre.

Cette méthode permet d'obtenir une mortalité relativement faible, qui dépasse très rarement 50 % des plants isolés. La plupart restent en vie et sont très vigoureux.

## 3. RÉSULTATS

Nous avons enregistré quelques différences, en ce qui concerne la floraison, entre les plants isolés et les plants en contact avec des plantes-mères sexuées.

Ces différences concernent surtout :

a) Le **pourcentage** des floraisons ;
b) Le **moment de la première** floraison des plants ;
c) La **forme** des hampes florales.

### a - Le pourcentage des floraisons [1].

Le tableau I relate les résultats relevés sur soixante plants de quatre feuilles, mis en expérience à l'âge de deux ou trois feuilles. Vingt-cinq de ces plants constituent les deux séries en contact avec une plante-mère sexuée (témoins) ; les trente-cinq autres, les quatre séries de plants isolés.

24 plants des séries en contact, sur 25, sont en fleur, soit près de 100 %.

6 plants isolés seulement, sur 35, portent une hampe florale, soit près de 20 %.

Si on s'adresse à des plants plus âgés, de six feuilles, par exemple, les pourcentages se modifient dans le cas des plants isolés.

---

(1) En réalité il s'agit, dans le cas des plants isolés, de floraisons **qui avortent** (voir plus loin).

## Tableau I

| | | Plants en contact avec une pl.-mère sexuée | | Plants isolés | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1° série | 2° série | 1° série | 2° série | 3° série | 4° série | |
| Nombre de plants en observation | | 13 | 12 | 11 | 7 | 8 | 9 | |
| Plants qui portent une hampe florale | Nombre | 13 | 11 | 2 | 1 | 1 | 2 | Stade de 4 feuilles |
| | Pc. | 100 pc. | 91 pc. | 18 pc. | 14 pc. | 12 pc. | 22 pc. | Stade de 4 feuilles |
| | | env. 100 pc. | | environ 20 pc. | | | | Stade de 4 feuilles |
| | Nombre | 13 | 11 | (1) | (1) | 4 | 4 | Stade de 6 feuilles |
| | Pc. | 100pc. | 91 pc. | (1) | (1) | 50 pc. | 44 pc. | Stade de 6 feuilles |
| | | environ 100 pc. | | environ 50 pc. | | | | Stade de 6 feuilles |

(1) Nous n'avons pas continué à suivre ces deux séries.

Huit plants isolés de six feuilles portent une hampe sur dix-sept plants encore en culture ; le pourcentage atteint près de 50 %, contre 20 % pour les plants isolés de quatre feuilles (1).

Dans la suite, il reste stationnaire (diagramme pl. 1 fig. 2) ; 50 % seulement des plants isolés, de dix feuilles ou plus, portent une hampe florale.

**Il est clair que l'isolement nuit à la floraison des plants.**

---

(1) Dès qu'ils ont dépassé le cap de quatre feuilles, tous les plants isolés se développent à coup sûr et sont bien vivants, si la culture est soigneusement conduite.

L'élévation du pourcentage des plants portant une hampe n'est pas dû à la mort d'un certain nombre de plants, mort qui affecterait surtout les plants qui n'en ont pas.

## b - Le moment de la première floraison des plants.

Le diagramme (Pl. 1 fig. 2) montre que les plants munis de deux feuilles ne portent pas de hampes florales. Les premières hampes apparaissent au moment de la croissance de la troisième feuille : 25 % des plants en contact fleurissent alors ; à ce stade, les plants isolés sont stériles. La croissance de la quatrième feuille coïncide avec la floraion de la majeure partie — 63 % — des plants en contact ; les premiers plants isolés portent des hampes : on en compte 18 %. Avec la cinquième feuille, les derniers plants en contact (8 % des plants) font des fleurs ; dans la série des plants isolés, le pourcentage des hampes nouvelles se maintient : 17 %. A la sixième feuille, tous les plants en contact (96 % des plants) ont fleuri : on ne note plus de floraisons nouvelles ; 11 % des plants isolés font encore une hampe. A la septième feuille : plus de floraison. Au total 50 % des plants isolés portent des hampes florales.

**Les plants isolés qui portent une hampe font cette hampe avec « retard » ; les plants en contact sont en fleur plus tôt.**

On pourrait considérer arbitrairement comme « la période normale de floraison » celle qui coïncide avec la croissance de la troisième feuille. Dans cette convention, on ne peut trouver de « floraisons normales » que dans la série des plants en contact. Dans la série des plants isolés, les « floraisons » sont « en retard » d'au moins une feuille. Elles peuvent même se produire avec un « retard » de trois feuilles, ce qui n'a jamais lieu dans la série des plants en contact.

On observe toutefois rarement (voire jamais) un « retard » de trois feuilles sur des plants qui ont été séparés de la plante-mère pendant la croissance de la troisième feuille : la « floraison » de ces plants se fait généralement avec un « retard » d'une feuille.

Pour constater un « retard » de deux ou de trois feuilles, il faut s'adresser à des plants isolés pendant la croissance de la deuxième ou de la première feuille (voir tableau II) (1).

Le tableau II exprime que la valeur du « retard » dans la « floraison » des plants isolés dépend du moment de l'isolement.

Il apparaît que : **plus longtemps le plant isolé reste en contact avec la plante-mère, plus tôt il fait une hampe, moins grand est le « retard ».**

---

(1) Le tableau II concerne une seule série d'expérience ; mais tous les essais répondent de la même façon.

TABLEAU II

| La 1° hampe coïncide avec la : | Seize plants en contact avec une plante-mère sexuée | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| 3e feuille | | + | | | | + | | | | | | | | + | + | |
| 4e feuille | | | + | + | + | | + | + | | + | + | + | | | | + |
| 5e feuille | + | | | | | | | | | | | | + | | | |
| 6e feuille | | | | | | | | | 0 | | | | | | | |

| La première hampe coïncide avec la : | Seize plants isolés | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | à la prem. feuille | | | à la deuxième feuille | | | | | | | | | à la troisième feuille | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| 3e feuille | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4e feuille | | | | | | | | | | | | | + | | | + |
| 5e feuille | | | | + | | | | | + | | + | | | | | |
| 6e feuille | | + | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 | | + | | 0 | | 0 | 0 | |

0 : Pas de hampe florale.

### c - La forme des hampes florales.

La figure 1 de la planche 2 représente la forme de la première hampe florale qui a grandi sur un plant en contact. Le pédoncule se termine par une fleur. Il porte, insérées latéralement, à des niveaux différents, deux feuilles. La première de ces feuilles est trifoliée, munie de stipules (1) ; elle est distante de l'insertion du pédoncule sur la tige de 6 mm. environ. La deuxième feuille est monofoliée (2). A l'aisselle de chacune de ces feuilles, on trouve un bourgeon qui grandit en donnant un pédoncule terminé par une fleur. Ce

(1) Cette feuille est, sur certaines hampes, bi- ou monofoliée ; mais ces cas sont rares.

(2) On ne trouve pas cette deuxième feuille sur toutes les hampes ; lorsqu'elle est présente, elle est bi- ou monofoliée (très rarement trifoliée).

pédoncule porte, insérée latéralement, une feuille mono- ou bifoliée, qui à son tour cache à son aisselle un bourgeon. La plupart des hampes répètent plusieurs fois cette organisation ; chacun des bourgeons successifs grandit en un pédoncule terminé par une fleur.

La figure 2 de la planche 2 représente une hampe florale obtenue sur un plant isolé. Le bouton floral s'est atrophié et ne s'est pas ouvert. La hampe est restée courte et trapue ; la première feuille de cette hampe est à une distance de 2 mm. de l'insertion sur la tige. Le bourgeon axillaire de la feuille donne, non un pédoncule terminé par une fleur, mais des feuilles trifoliées.

**L'isolement a agi sur la forme de la hampe florale** (Pl. 2, fig. 2). La hampe ne s'est pas développée jusqu'au bout en tant que hampe florale : **Tout se passe comme si le développement des organes des fleurs avait avorté ; comme si le retour à la croissance végétative avait été imposé à la hampe.**

Des cas analogues à ceux de la planche 2, fig. 2 se rencontrent couramment dans la série des plants isolés (Tableau III).

Le tableau III montre que la malformation des boutons floraux qui terminent le pédoncule principal est toujours accompagnée de la réduction de la longueur du pédoncule mesurée de l'insertion sur la tige à l'aisselle de la première feuille. En même temps, les bourgeons axillaires se développent comme des bourgeons végétatifs.

## 4. RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

L'isolement des plants de *Fragaria vesca* L. var. *semperflorens* Duch., a trois effets principaux :

1) Beaucoup de plants — 50 % — **ne portent même pas de hampes** dans ces conditions ;
2) Les plants isolés qui font une hampe, le font avec **un certain « retard »**. Le « retard » est d'autant plus long que le contact avec la plante-mère sexuée est court ;
3) Les hampes florales des plants isolés sont **anormales** : le premier bouton floral se développe mal et avorte ; le bourgeon axillaire de la feuille trifoliée grandit en faisant des feuilles trifoliées ; la longueur du pédoncule floral mesurée de son insertion sur la tige à l'aisselle de la première feuille trifoliée est très courte.

Ces faits montrent que la formation des organes floraux sur les plants isolés est difficile. Cette constatation s'explique si on admet que la plante-mère sexuée agit en stimulant la floraison des plants en contact. Les plants isolés ne peuvent recevoir ce stimulus.

## TABLEAU III

| | N° d'ordre | Etat des boutons floraux | | | Longueur, en mm., de la distance entre l'insertion de la hampe sur la tige et l'aisselle de la première feuille sur la hampe |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Non formés | Mal formés | Formés | |
| Dix hampes obtenues sur des plants en contact avec une plante-mère sexuée | 1 | | | + | 4 |
| | 2 | | | + | 1 |
| | 3 | | + | | 2 |
| | 4 | | | + | 15 |
| | 5 | | + | | 6 |
| | 6 | | | + | 15 |
| | 7 | | | + | 40 |
| | 8 | | | + | 55 |
| | 9 | | | + | 35 |
| | 10 | | | + | 45 |
| Totaux | | 0+ | 2+ | 8+ | 218 mm. |
| Dix hampes obtenues sur des plants isolés | 1 | | + | | 2 |
| | 2 | + | | | 2 |
| | 3 | | | + | 6(1) |
| | 4 | | | + | 5(1) |
| | 5 | + | | | 0 |
| | 6 | + | | | 1 |
| | 7 | + | | | 0 |
| | 8 | + | | | 0 |
| | 9 | + | | | 2 |
| | 10 | + | | | 0 |
| Totaux | | 7+ | 1+ | 2+ | 18 mm. |

(1) Ces deux hampes ont un bouton floral bien constitué. On constate que la distance entre l'insertion du pédoncule sur la tige et l'aisselle de la première feuille est relativement élevée, bien que ces hampes croissent sur des plants isolés. L'état des boutons floraux détermine cette distance.

La production de hampes florales anormales sur les plants isolés est particulièrement démonstrative. Ces hampes sont caractérisées par l'arrêt du développement du bouton floral qui avorte. L'avortement coïncide avec l'inhibition de la croissance de la hampe. La corrélation, bouton floral — hampe, a été signalée par Söding en 1926 ; cet auteur croit que la fleur a une action sur la croissance de sa hampe.

Le bourgeon axillaire de la feuille trifoliée d'une hampe anormale, obtenue sur un plant isolé, fait des feuilles trifoliées tout à fait normales, comme un méristème végétatif asexué.

L'isolement du plant n'empêche donc pas la **croissance** du bourgeon. **Mais cette croissance est végétative.**

En fait, deux possibilités s'offrent au méristème du bourgeon axillaire ; il peut faire, soit des fleurs, soit des feuilles trifoliées normales.

**Le contact avec la plante-mère sexuée le détermine dans le sens de la floraison ; l'isolement, dans le sens végétatif.**

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — Hartmann H. T. — Some effetcs of Temperature and Photoperiod on Flower Formation and Runner Production in Strawberry, *Plant Physiology*, 22, p. 407, 1947.

2. — Söding H. — Ueber den Einfluss der jungen Infloreszenz auf dem Wachstum ihres Schaftes, *Zeitschr. Wiss. Bot.*, 65, p. 611, 1926.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
Laboratoire de Physiologie végétale

Fig. 1.

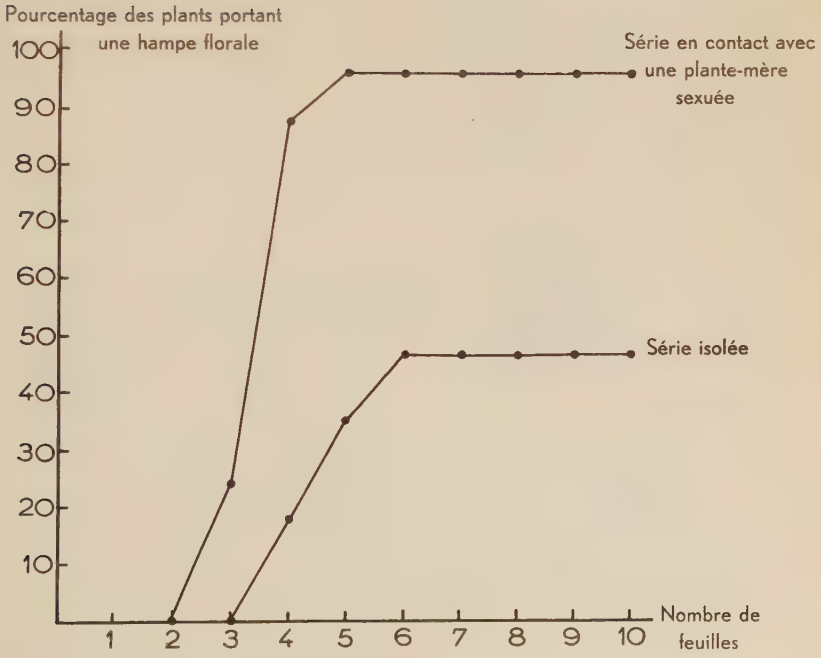

Pourcentage des plants portant une hampe florale
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
Série en contact avec une plante-mère sexuée
Série isolée
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
Nombre de feuilles

Fig. 2.

1

2

# OBSERVATIONS SUR LA STRUCTURE ET LE FONCTIONNEMENT DU MÉRISTÈME EN RAPPORT AVEC LE DÉVELOPPEMENT CHEZ *FRAGARIA VESCA L.* VAR. *SEMPERFLORENS DUCH.*

par **C. SIRONVAL,**
*Licencié en Sciences.*

## 1. INTRODUCTION

Nous rapportons dans cet article quelques observations sur la structure et le fonctionnement du méristème de *Fragaria vesca L. var. semperflorens Duch.* en rapport avec le passage de l'état asexué à l'état sexué.

La sexualisation de cette plante, semée le 1er mai et cultivée selon les méthodes ordinaires du jardinage, a lieu à Liège à une époque qui correspond à un certain état des feuilles. *Cet état est atteint graduellement.* Voici comment :

La première et la deuxième feuille de la plantule comptent toutes deux cinq dents et sont entières. La troisième feuille compte généralement sept dents ; elle est mono- ou bifoliée, plus rarement trifoliée. La quatrième feuille a sept ou dix dents ; elle est ordinairement bifoliée, parfois trifoliée. La cinquième feuille, avec quinze dents, est toujours trifoliée.

Dans la suite, le nombre de dents ne cesse d'augmenter, les feuilles restant trifoliées.

On rencontre successivement des feuilles de 20, puis de 30, puis de 40, puis enfin de 50 dents. A ce moment, la progression devient plus lente ; il y a des fluctuations dans le nombre des dents ; on constate des diminutions et des progressions de valeur à peu près équivalentes. En même temps, une hampe florale apparaît.

*Le passage de la plante à l'état sexué s'est produit : il coïncide avec la présence de feuilles munies de* 50 *dents.*

Le méristème, qui, jusque là, a fait exclusivement des feuilles, construit une première fleur. Son fonctionnement s'est modifié.

## 2. LITTÉRATURE

La littérature nous a apporté ces dernières années quelques données fort utiles sur la structure du méristème.

En 1924, SCHMIDT (13) introduit, pour la première fois, une distinction entre la tunique et le corps.

Cette distinction est corrigée par les travaux ultérieurs. SATINA, BLAKESLEE et AVERY (1940-11) et SATINA et BLAKESLEE (1941-1943-10) prouvent, en utilisant des chimères polyploïdes, l'existence de rapports entre les assises inférieures de la tunique et le corps.

Les travaux de REEVE (1948-9) aboutissent à une conclusion analogue.

En 1942, MAJUMDAR (5) approfondit l'étude de la structure du corps. Dans le corps du méristème asexué de *Heracleum Sphondylium L.*, il décrit une RÉGION CENTRALE, en forme de tronc de cône renversé. La base du tronc épouse la forme en dôme du méristème. Les cellules de cette région sont grandes, disposées sans ordre apparent ; le protoplasme en est finement vacuolisé et les mitoses sont rares. Autour de la région centrale, MAJUMDAR trouve deux autres zones. La première, appuyée sur les flancs du cône : le « FLANK MERISTEM » a des cellules petites, disposées en files régulières, à protoplasme peu vacuolisé, et présentant des noyaux fréquemment en mitoses. Ces caractères suggèrent que le « flank meristem » est plus activement méristématique que la région du cône central. La deuxième zone, située immédiatement sous le tronc de cône central, constitue le « FILE MERISTEM ». MAJUMDAR ne s'étend pas beaucoup sur les caractères de cette région « qui pourrait ne pas être inclue dans le méristème apical proprement dit ». MAJUMDAR montre que le « FLANK MERISTEM » contribue à l'initiation des primordia foliaires, tandis que le « FILE MERISTEM » est à l'origine de la stèle. Le rôle de la région centrale à grandes cellules n'est pas clairement défini.

HZU (1944-2) et MITRA (1945-6) arrivent à des conclusions analogues à celles de MAJUMDAR, respectivement chez : *Polygonum orientale L.* et *Sinocalamus beechyana Mac Clure.*

PHILIPSON (1946-1947-7)étend ces conclusions à plusieurs autres espèces : *Bellis perennis L., Dipsacus fullonum L., Valeriana officinalis L., Succisa pratensis Moench, Angelica silvestris L.* et *Sambucus nigra L.*

PHILIPSON trouve, dans le corps de toutes ces plantes, une zone centrale de grandes cellules entourée d'une zone périphérique plus « méristématique ». Cette zone plus « méristématique » comprend : latéralement le « flank meristem » et sous la zone centrale, le « file meristem ». Il signale en outre la présence, chez certaines plantes, de *Bellis perennis L.* et de *Succisa pratensis Moench*, d'une région de structure cambiale dans la partie supérieure du « file meristem », au contact de la zone centrale à grandes cellules : le « RIB-MERISTEM ».

PHILIPSON étudie l'évolution de la structure du corps lors du passage de la plante de l'état asexué à l'état sexué.

En 1946, chez *Bellis perennis L.* (7), il décrit le remplacement (« replacement ») de la zone centrale à grandes cellules par la zone périphérique du « flank meristem » Ce processus aboutit à la constitution du « MANTEAU » du jeune capitule, dans le sens donné par GRÉGOIRE (1938-1) à ce terme. Mais, en 1947, l'observation des phénomènes qui se présentent chez *Succisa pratensis Moench* (1947-7) conduisent PHILIPSON à s'exprimer d'une autre façon. Au moment de la formation du méristème floral, la zone centrale à grandes cellules ne garde pas plus longtemps son identité et est remplacée par des cellules plus petites *semblables* à celles de la zone périphérique. *Néanmoins, la zone périphérique continue pendant quelque temps à être distincte.* Il ne s'agit plus ici d'un envahissement de la zone centrale par le « flank meristem » mais *d'un changement de structure de celle-ci* ; l'état sexué du méristème diffère de l'état asexué « mereley in the degree of development of the different meristematic zones » (PHILIPSON, 1947-7).

## 3. OBSERVATIONS PERSONNELLES

Nos observations sur la structure et le fonctionnement du méristème en rapport avec la sexualisation font état de faits anatomiques d'une part, morphologiques d'autre part.

Nous décrirons d'abord la structure du méristème asexué, puis son fonctionnement ; ensuite la structure du méristème sexué et son fonctionnement. Nous faisons suivre chaque paragraphe d'une discussion.

### I. STRUCTURE DU MÉRISTÈME ASEXUÉ.

La figure 1 représente une coupe longitudinale dans le méristème asexué de *Fragaria vesca L. var semperflorens Duch.*

On y distingue d'emblée LA TUNIQUE, comprenant deux couches de cellules, (on peut en observer parfois trois), DU CORPS sous-jacent.

DANS LA TUNIQUE, les divisions sont généralement anticlines. Au centre, dans l'axe du méristème, les cellules sont volumineuses ; latéralement, en A et en B, fig. 1, elles sont nettement plus étroites ; la tunique est divisée en *trois zones* : une zone *axiale* à grosses cellules et deux zones *latérales* à cellules étroites.

Quelle que soit la coupe étudiée, à condition qu'elle passe par l'axe du méristème, on trouve, dans la tunique, deux zones latérales de part et d'autre de la zone axiale. Ces deux zones font donc partie d'une zone unique en forme d'anneau entourant la zone axiale : *la zone latérale de la tunique.*

LE CORPS, sous la tunique, montre, lui aussi, en coupe longitudinale, plusieurs zones. Dans l'axe, les cellules sont grandes et irrégulièrement agencées en un massif lenticulaire biconvexe (C, fig. I). Les parois cellulaires sont disposées sans ordre apparent. Les noyaux sont volumineux ; le protoplasme finement vacuolisé.

Nous appelons cette zone *la zone axiale du corps.*

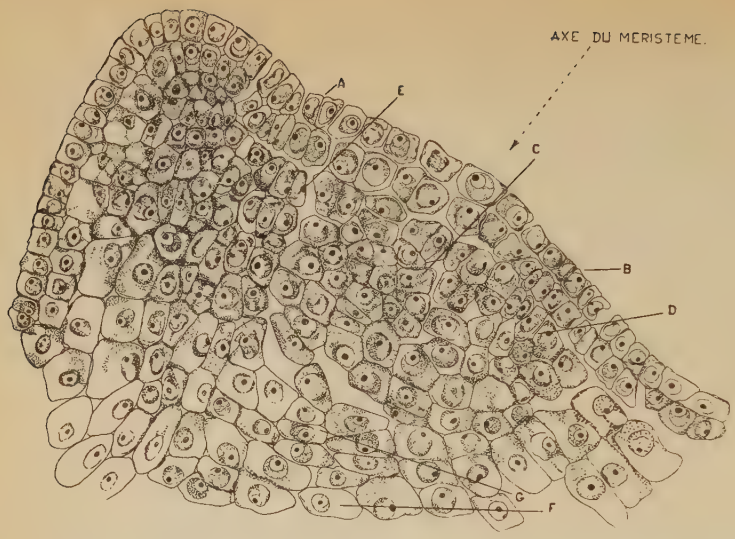



Fig. 1. Coupe longitudinale par l'axe du méristème asexué. A gauche, une ébauche foliaire. Explication dans le texte. Gross : 600 ×

Fig. 2. Coupe longitudinale par l'axe du méristème asexué : En A, en pointillé, début de l'élargissement latéral du méristème inaugurant la formation d'une ébauche foliaire. En B, le pointillé indique la base de l'ébauche foliaire précédente. Gross : 600 ×

Tout autour d'elle, les cellules, plus petites, en voie de recloisonnement, se disposent en séries parallèles. Elles s'ordonnent en trois zones : deux *zones latérales* s'étendant à gauche et à droite de la zone axiale (D, E, fig. 1) et une *zone sous-jacente* (F et G, fig. 1).

*Les zones latérales du corps* sont situées sous les cellules étroites de la zone latérale de la tunique (E et D sous A et B).

Ce que nous avons dit plus haut pour cette dernière zone est valable pour les zones latérales du corps.

Quelle que soit la coupe longitudinale étudiée, à condition qu'elle passe par la zone axiale, on trouve deux zones latérales. Ces zones font donc partie d'un anneau *unique* : *la zone latérale du corps.*

Là, où une ébauche foliaire se constitue, on observe un élargissement de l'anneau, de la zone latérale.

A cet endroit, la zone latérale revêt, en coupe longitudinale, divers aspects qui se succèdent dans le temps : ces aspects sont liés à l'activité de construction de l'ébauche.

Dans un premier stade, on trouve surtout des plans de divisions anticlines (A, fig. 2). Ils contribuent à élargir latéralement le méristème et créent le « soubassement foliaire ». (Cf. Louis, 1935-4).

Dans un deuxième stade, des divisions périclines s'ajoutent aux divisions anticlines : un « mamelon foliaire », une « protubérance foliaire » se constitue. (Cf. Louis, 1935-4).

Les cellules de la zone latérale de la tunique participent à ce processus. Elles se mêlent partiellement à celles de la zone latérale du corps. La couche extérieure de la tunique toutefois reste distincte. Les divisions anticlines qui s'y succèdent lui permettent de s'étendre en couvrant la protubérance foliaire.

La coupe longitudinale de la fig. 1, montre sous le massif lenticulaire de la zone axiale, *la zone sous-jacente* (F, fig. 1).

On rencontre d'abord, vers le bas à partir de la zone axiale, deux ou trois couches de cellules plates (G, fig. 1 et fig. 2), empilées en files comme des cellules de cambium. Les divisions sont ici exclusivement périclines (« rib-meristem » de Philipson).

Plus bas, les files se multiplient ; la zone sous-jacente s'élargit. On trouve des divisions anticlines, bien que les périclines restent dominantes. Le résultat de cette activité est la construction du pléiome.

Discussion. La description du méristème asexué de *Fragaria vesca L. var. semperflorens Duch.*, est en accord avec les données de Majumdar et de Philipson.

La zone latérale du corps correspond au « flank meristem » de Majumdar et à la « peripheral zone » de Philipson ; la zone axiale, à la « central zone » de ces auteurs ; la zone sous-jacente, au « file meristem » de Majumdar et de Philipson, et, dans le haut, au « rib meristem » de Philipson (1).

(1) Lawalrée (1948-3) donne le nom de zone « pléromatique » à l'ensemble : zone axiale du

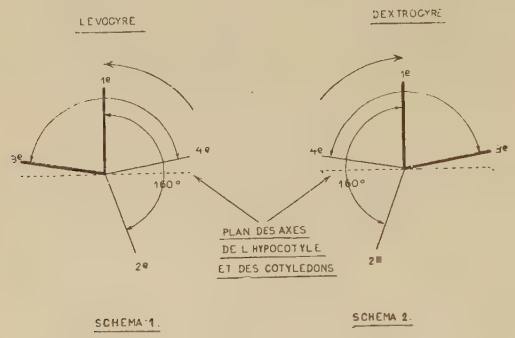
II. Fonctionnement du méristème asexué.

Le méristème asexué construit la stèle et dispose le long de celle-ci la série des feuilles successives et les bourgeons axillaires de ces feuilles.

Il en résulte une phyllotaxie déterminée qui reflète le fonctionnement du méristème.

*Nous avons étudié cette phyllotaxie* :

La première feuille de la plantule fait avec le plan passant par l'axe de l'hypocotyle et des cotylédons un angle de 90 degrés (suivre sur le schéma 1).




La deuxième feuille est à peu près opposée à la première ; elle fait avec elle un angle interne de 160 degrés environ.

La troisième feuille apparaît dans l'angle externe formé par les deux premières feuilles. Elle fait avec la première un angle de 80 degrés environ ; avec la deuxième, un angle de 120 degrés.

La quatrième feuille s'étale ensuite dans l'angle interne formé par les deux premières feuilles. Elle fait avec la première et la deuxième feuille un angle de 80 degrés. Cette disposition donne l'aspect de la fig. 3.

L'angle intérieur entre la première et la deuxième feuille est donc égal à l'angle intérieur entre la troisième et la quatrième feuille (160 degrés). L'angle extérieur est également constant (200 degrés).

Dans la suite, pour chaque paire de feuilles ultérieures, et aussi longtemps que la plante reste asexuée, la constance des angles intérieurs et extérieurs persiste (fig. 4).

---

corps, plus zone sous-jacente. Il ne voit pas de distinction entre ces 2 zones. Outre qu'il faut les distinguer, rien ne prouve, pensons nous, que la zone axiale participe à la construction du plérome au même titre que sa voisine.

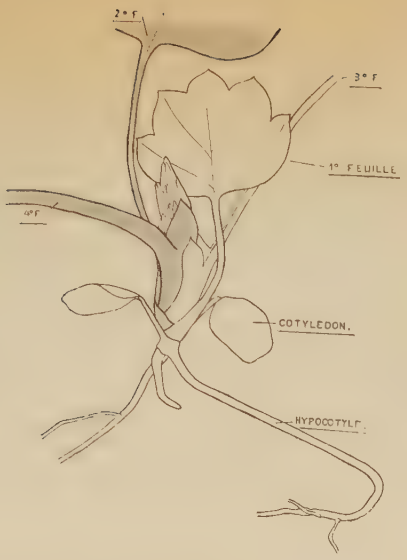



FIG. 3. Aspect d'une plantule de quatre feuilles. On retrouve les paires de feuilles (1-2) et (3-4) (Voir le texte). La plante est lévogyre.

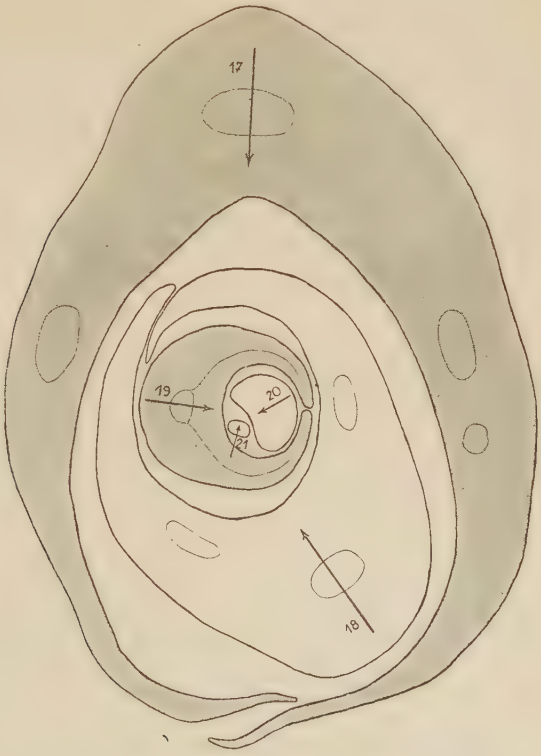



FIG. 4. Coupe transversale passant par le sommet du méristème d'une plante de 20 feuilles environ. Les feuilles sont disposées par paires (17-18) et (19-20). La plante est lévogyre. Les bourgeons qui existent à l'aisselle de chaque feuille ne sont pas représentés.

Par contre, *l'angle entre la première et la deuxième, la deuxième et la troisième, la troisième et la quatrième feuille fluctue entre deux valeurs.* Nous appelons cet angle : l'angle de divergence d'une feuille à la suivante, selon la terminologie classique.

Pour certains individus de notre fraisier, si on mesure les angles de divergence rencontrés à partir de la première feuille, en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre (schéma 2), on trouve successivement : un angle de 200 degrés ; un angle de 240 degrés ; puis à nouveau un angle de 200 degrés. Cette fluctuation persiste dans la suite avec la cinquième, la sixième, la septième feuille, etc...

*En tournant dans le sens inverse, on trouve une fluctuation analogue, mais de valeur différente.* On commence par 160 degrés, puis 120 degrés, puis 160 degrés etc..., (schéma 2).

Pour d'autres individus, c'est en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre qu'on trouve la fluctuation 160 degrés-120 degrés. En tournant dans le sens inverse, on trouve alors la fluctuation 200 degrés-240 degrés (schéma 1).

*Ces deux catégories d'individus se comportent comme si elles étaient chacune l'image virtuelle de l'autre formée dans un miroir* (schéma 1 et schéma 2). On aboutit à la même conclusion en examinant la structure des feuilles.

Nous avons eu à notre disposition un grand nombre de fraisiers dont la dernière feuille était munie en moyenne de vingt dents. Les feuilles de vingt dents sont trifoliées (1). Nous avons dénombré soigneusement les dents de chaque foliole des feuilles suivantes de chaque plante. Ce nombre augmente avec chaque nouvelle feuille. On constate que l'augmentation affecte, chez certaines plantes, plus fortement le foliole droit que le foliole gauche (diagr. 2). Nous disons que le foliole droit est « avantagé ». Chez d'autres plantes, c'est l'inverse (diagr. 1).

*Il y a donc, sous ce rapport, deux catégories de plantes.*

L'examen attentif de la disposition des feuilles montre que *les plantes dont le foliole droit est « avantagé » au point de vue du nombre de dents, sont représentées par le schéma 2 ; les plantes dont le foliole gauche est « avantagé » sont représentées par le schéma 1.*

Nous résumons ces observations en cinq points :

1° La première feuille de la plantule fait avec la deuxième un angle interne de 160 degrés, un angle externe de 200 degrés ; *chaque paire de feuilles ultérieure est caractérisée par des angles identiques* pour autant que la plante reste asexuée.

2° *L'angle de divergence* (d'une feuille à la suivante) *fluctue entre deux valeurs.*

3° *Ces valeurs sont différentes,* pour une plante déterminée, *selon le sens dans lequel on mesure* les angles de divergence.

4° *Il y a deux catégories de plantes* qui sont chacune l'image de l'autre dans un miroir.

5° *L'existence de ces deux catégories est confirmée par le dénombrement des dents des folioles gauche et droit des feuilles trifoliées.*

(1) La première feuille trifoliée est généralement celle de quinze dents.

Diagrammes 1 et 2.

En Abscisse : le nombre de dents trouvé en plus sur le foliole droit (courbe ●——●) ou sur le foliole gauche (courbe ●·····●) par rapport au foliole opposé de la même feuille = « avantage » d'un foliole sur l'autre.

En Ordonnée : la fréquence d'un « avantage » déterminé.

Le diagramme 1 montre que chez les plantes *levogyres*, l'« avantage » du foliole gauche est généralement très élevé (deux unités ou plus) ; l'« avantage » du foliole droit est par contre généralement bas (une unité dans 84 % des cas).

C'est l'inverse chez les plantes *dextrogyres* (diagramme 2).

Discussion. L'activité de la zone latérale du corps et de la tunique, qui construit les ébauches foliaires et les dispose autour de la stèle, doit concourir à ordonner les feuilles selon les rapports qui viennent d'être décrits.

On peut imaginer, par exemple, selon la théorie classique, que les ébauches foliaires apparaissent dans les zones latérales du corps et de la tunique *le long d'une hélice unique*. Dans ce cas, on décrit la disposition des feuilles par la valeur de l'angle de divergence d'une feuille à l'autre, le long de l'hélice. Chez notre fraisier, cette valeur est variable.

Admettant cette hypothèse de l'hélice unique, Schimper (1829-12) prend le parti d'exprimer la valeur de la divergence par *une moyenne*. Il part d'une feuille quelconque et compte, de divergence en divergence, le nombre de feuilles nécessaires pour rencontrer le long de l'hélice une feuille exactement superposée à la première. Soit $x$ ce nombre. Le nombre d'angles de divergence est $(x - 1)$. La somme de ces angles vaut un certain nombre entier de tours, puisque la première et la dernière feuille se superposent. Soit $y$ ce nombre de tours. Schimper exprime la divergence par le rapport : $\frac{y}{(x-1)}$.

Il faut noter que la valeur de la divergence moyenne varie pour une plante déterminée de fraisier selon l'hélice choisie : on peut construire cette hélice dans le sens des aiguilles d'une montre, ou dans le sens inverse.

S'il s'agit d'une plante répondant au schéma 2, et si l'on tourne dans le sens des aiguilles d'une montre, le rapport est de trois tours complets en six feuilles, c'est-à-dire en cinq angles de divergence ; la valeur de la divergence moyenne est : 3/5. Dans le sens inverse, elle est : 2/5.

Pour un individu répondant au schéma 1, la valeur de la divergence, dans le sens des aiguilles d'une montre, est : 2/5 ; dans le sens inverse de : 3/5.

La méthode de Schimper est devenue classique ; elle est généralement enseignée. Son point de départ est l'hypothèse que les ébauches se disposent selon une hélice unique, comme le fait très bien remarquer Plantefol, dans un important travail récent (1946-8).

En ce qui concerne notre fraisier, elle conduit à *escamoter*, par une valeur *moyenne*, la variabilité de la valeur *réelle* de la divergence. De plus, elle ne tient compte, ni de la constance des angles interne et externe de chaque paire de feuille, comptée à partir de la première paire, ni surtout de l'existence de deux catégories distinctes de plantes.

La théorie des hélices multiples de Plantefol permet d'atteindre ce résultat.

Admettons que l'ensemble des feuilles impaires à partir de la première se disposent sur une hélice, l'ensemble des feuilles paires à partir de la seconde se disposant sur une autre hélice parallèle à la précédente. Dans cette hypothèse, l'ébauche de la troisième feuille est la deuxième ébauche de la première hélice ; l'ébauche de la quatrième feuille la deuxième ébauche de la deuxième hélice.

La position de chacune de ces deux ébauches fait avec la position des deux pre-

mières ébauches de chaque hélice un angle de 80 degrés (1). Leur position relative, l'une par rapport à l'autre, reste inchangée.

Les ébauches apparaissent par paire. L'angle interne et par conséquent l'angle externe de chaque paire a une valeur constante.

Tout se passe comme si, pour une plante donnée, on assistait à une « progression » *de ces paires d'ébauches*, dans un certain sens. Chaque paire « progresse » de 80 degrés par rapport à la précédente.

Chez certaines plantes, le sens de la « progression » est celui des aiguilles d'une montre : ce sont les *plantes dextrogyres* (fig. 5) ; chez d'autres, elle a lieu dans le sens inverse : ce sont les *plantes lévogyres* (fig. 6).

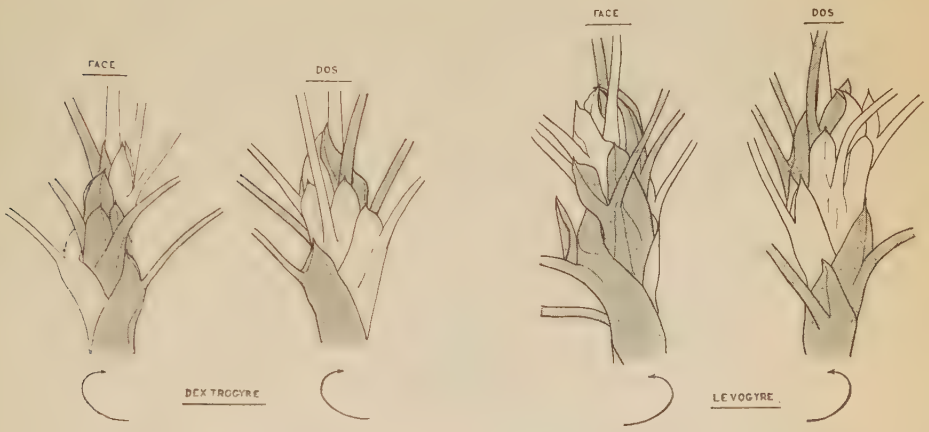



Fig. 5 et 6. Aspect de l'insertion des feuilles chez deux plantes asexuées d'une vingtaine de feuilles.

Une des plantes (fig. 5) est dextroxyre, l'autre, levogyre (fig. 6). Nous avons ombré une hélice.

Les plantes dextrogyres correspondent au schéma 1, les plantes lévogyres au schéma 2.

*Il y a donc deux catégories de plantes*, comme nous l'avons décrit précédemment.

En utilisant la théorie des hélices multiples de Plantefol et en l'appliquant à notre cas, on explique simplement des faits devant lesquels la théorie de Schimper est impuissante.

* * *

(1) On ne peut plus parler ici d'une *divergence* : les ébauches successives d'une même hélice ne divergent pas. Elles se *juxtaposent au contraire* ; *elles sont adjacentes*, comme le montre Plantefol.

C'est pourquoi, nous croyons qu'on doit se représenter le méristème de *Fragaria vesca L. var. semperflorens Duch.*, comme recélant constamment deux ébauches foliaires en construction, l'une précédant quelque peu l'autre dans sa croissance. Ces deux ébauches sont localisées dans la zone latérale du corps et de la tunique. Elles font entre elles un angle interne constant de 160 degrés (et par conséquent un angle externe constant de 200 degrés). Elles sont remplacées par deux autres ébauches qui font chacune avec les deux premières un angle de 80 degrés. Tout se passe comme si on assistait à la « progression » de *« paires d'ébauches »*. Chaque plante est caractérisée par un sens déterminé de la « progression » de « paires d'ébauches ». Il est dextrogyre pour une catégorie de plantes, lévogyre pour une autre catégorie.

### III. Structure du méristème sexué.

Le schéma 3 représente la forme d'un méristème sexué au moment où il vient de produire une hampe florale (en — 3 —). On voit vers l'avant en — 1 — l'ébauche déjà avancée d'une jeune feuille ; en —2 — le méristème proprement dit ; en — 3 — l'ébauche d'une hampe florale. Le méristème proprement dit occupe son aire minimale (Cf. Louis, 1935-4).

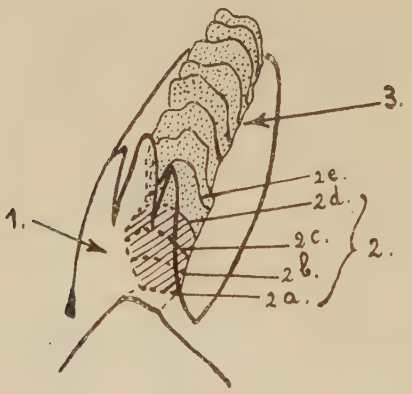



*Schéma* 3. Explications dans le texte. On a construit le schéma en reportant le long d'une droite à des intervalles égaux (arbitraires) l'aspect des coupes successives au faible grossissement.

Une coupe faite en 2a (fig. 1 de la planche) est juste tangentielle au méristème. On y distingue la tunique et le corps. La deuxième couche de la tunique est le siège de divisions anticlines (a, b). La zone latérale se reconstitue sous la tunique ; on la coupe tangentiellement à son extrémité.

Une coupe faite en 2 b (fig. 2 de la planche) montre une tunique à deux assises. Les zones axiales ne sont visibles ni dans le corps, ni dans la tunique. Dans le corps,

la zone latérale est divisée en une partie droite (b) et une partie gauche (a) qui se rejoignent sous la tunique au sommet du corps. Vers le bas, entre les parties gauche et droite de la zone latérale : la zone sous-jacente (c).

Une coupe faite en 2 c (fig. 3 de la planche) passe par l'axe du méristème. On y distingue d'emblée la tunique à deux couches de cellules. La zone axiale à cellules, un peu plus grandes, s'y différencie de la zone latérale à cellules plus étroites. Dans le corps, les cellules de la zone axiale sont à peine plus volumineuses (a) que celles de la zone latérale.

La zone latérale est coupée en deux parties, gauche et droite (b et c) séparées par la zone axiale. Les files de cellules de la zone latérale sont peu marquées. La zone sous-jacente (d) apparaît clairement sous la zone axiale, avec ses cellules plates, disposées en piles contiguës.

Une coupe faite en 2 d (fig. 4 de la planche) passe par la base de la hampe florale. On y distingue une tunique à deux assises, d'aspect uniforme dans toute la coupe. Dans le corps, les zones latérales sont réduites à quelques cellules sur la gauche surtout (a). La zone axiale s'est fortement élargie (b).

Une coupe faite en 2 e, passe par les tissus de la hampe florale.

Ainsi, dans un méristème sexué, l'anneau de la *zone latérale est interrompu là où s'insère l'ébauche de la hampe florale.*

En suivant l'axe — 1 —, — 3 — du schéma 3, *on passe directement de la zone axiale du corps aux tissus de la base de la hampe florale,* SANS TRAVERSER DE ZONE LATÉRALE.

Dans un méristème asexué, par contre, quel que soit l'état d'avancement des ébauches foliaires, la zone latérale est continue. On la trouve toujours entre une ébauche foliaire nouvelle et la zone axiale (fig. I, en A).

On peut d'ailleurs observer ce fait sur la coupe 2 a (fig. 1 de la planche) où la zone latérale est reconstituée, en face d'une ébauche foliaire, par les divisions périclines de la deuxième couche de la tunique et des cellules sous-jacentes ; on peut l'observer de même sur la coupe 2 b (fig. 2 de la planche) où les parties gauche et droite de la zone latérale se *rejoignent* au sommet du méristème.

Ces coupes prouvent *qu'en face d'une ébauche foliaire, la zone latérale* NE CESSE PAS D'EXISTER. Au contraire, en face d'une ébauche de hampe florale, elle est rompue ; les zones axiales du corps et de la tunique prennent à cet endroit une grande extension (fig. 4 de la planche).

DISCUSSION. Nous avons montré aux paragraphes I et II que les ébauches foliaires trouvent leur origine dans l'activité de la zone latérale du corps et de la tunique.

Les zones axiales ne participent pas directement à ces processus.

Les faits que nous venons de décrire montrent que, dans le méristème sexué, les zones axiales du corps et de la tunique sont en contact étroit avec les ébauches de hampes florales ; elles ont, contre ces ébauches, un grand développement ; on ne trouve pas de zone latérale à la base des ébauches.

*Les zones axiales du corps et de la tunique prennent, sans doute possible, une part différente à la construction des ébauches florales qu'à la construction des ébauches foliaires : les faits suggèrent que les zones axiales sont plus « actives » lorsqu'une hampe florale se forme.*

Cette « activité » des zones axiales s'oppose à leur « passivité » dans le processus de formation des feuilles.

Cette conclusion est analogue à celle de Philipson (1947-7) qui étudie le passage du méristème de *Succisa pratensis Moench* de l'état asexué à l'état sexué. Philipson montre que les grandes cellules de la zone axiale du corps (état asexué) sont remplacées par des cellules plus petites (état sexué).

*La zone axiale du corps subit une transformation qui, à notre avis, correspond à une activation.*

### IV. Fonctionnement du méristème sexué.

Lorsque le méristème devient sexué, *son fonctionnement se complique*. L'activation des zones axiales du corps et de la tunique est accompagnée de changements ; au lieu de deux hélices d'ébauches foliaires, on croit trouver généralement quatre hélices (fig. 7) qui paraissent s'orienter autour d'un axe unique (1) : trois hélices d'ébauches foliaires et une hélice d'ébauches participant à la construction des hampes florales (hélice de « hampes florales »).

Comme dans le méristème asexué, le long de chaque hélice, les ébauches se juxtaposent ; leur « progression » n'est plus de 80° : elle oscille entre 40 et 60 degrés (fig. 8).

La disposition des ébauches les unes par rapport aux autres est telle qu'on trouve toujours en face de l'ébauche d'une hampe florale, une ébauche foliaire dont la construction a précédé de peu. Ces deux ébauches sont à peu près opposées (fig. 8).

Tandis que l'ébauche de la hampe florale croît, deux ébauches foliaires nouvelles se constituent l'une après l'autre dans le méristème de la tige. L'axe qui réunit ces deux ébauches fait avec celui qui joint les deux ébauches précédentes (foliaire-hampe florale) un angle de 90 degrés environ. Ensuite, se forme à nouveau une ébauche foliaire, puis une ébauche de hampe florale qui lui est opposée, et ainsi de suite ..

### Discussion.

Nous avons vu au paragraphe précédent que la zone axiale du corps paraît plus active dans le méristème sexué : elle prend une part différente à la formation des ébauches de hampes florales qu'à la formation des ébauches foliaires.

L'étude de la disposition des ébauches montre que cette « activation » de la zone axiale est accompagnée d'une « activation » équivalente des zones latérales qui paraissent participer désormais à la construction de *quatre* ébauches(foliaires-florales).

(1) En fait, ce n'est qu'une apparence. Nos observations à ce sujet feront l'objet d'un travail spécial.

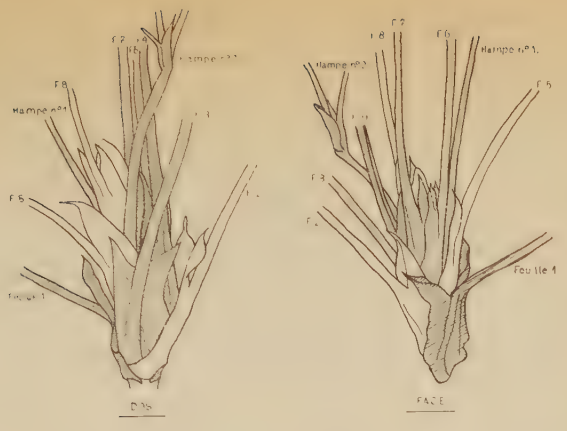



Fig. 7. Aspect de l'insertion des feuilles et des hampes florales d'une plante sexuée. La disposition des feuilles n'est pas aussi simple que sur les fig. 5 et 6. On a l'impression de trouver des hélices plus nombreuses. Nous indiquons les feuilles d'une même hélice par une convention déterminée : pointillé, hachures, blanc ; les hampes florales sont ombrées.

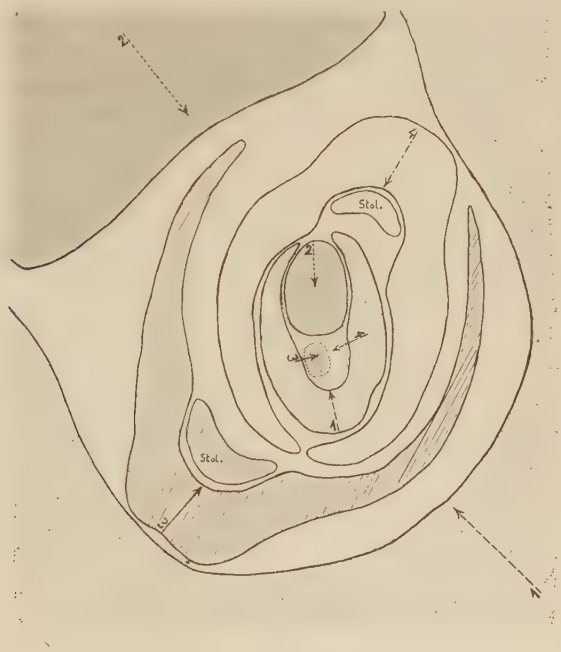



Fig. 8. Coupe transversale passant par le sommet du méristème d'une plante sexuée. On reconnait à première vue quatre hélices indiquées par des conventions différentes ; l'hélice 2 est l'hélice florale ; les hélices 1, 3 et 4 sont foliaires.

L'angle de progression d'une feuille à la suivante le long d'une hélice est d'une quarantaine de degrés.

Nous avons représenté à l'aisselle des feuilles l'emplacement des bourgeons axillaires (stol) qui ont grandi en stolons. On remarque que les stolons sont absents à l'aisselle des feuilles de l'hélice I, opposées aux hampes florales.

On est amené à considérer que l'*ensemble du méristème* est « *activé* » : l'activation de la zone axiale conduit à la floraison ; elle est accompagnée de l'activation de la zone latérale, qui multiplie les ébauches.

## 4. CONCLUSIONS

Nous pensons qu'on peut tirer les conclusions suivantes des observations exposées :

1° Le méristème asexué de *Fragaria vesca L. var. semperflorens Duch.*, est divisé en zones. La zone axiale du corps et de la tunique paraissent peu actives. Les zones latérales construisent les ébauches foliaires. La zone sous-jacente du corps élabore le plérome.

2° Les ébauches foliaires du méristème asexué se disposent le long de deux hélices. Chaque ébauche progresse par rapport à celle qui la précède sur la même hélice de 80 degrés environ. Chez certaines plantes cette progression est dextrogyre ; chez d'autres elle est lévogyre.

3° Dans le méristène sexué, la zone axiale prend un grand développement surtout à la base des ébauches de hampe florale. L'activité de la zone axiale est plus grande que dans le méristème asexué.

4° Les ébauches construites par le méristème sexué paraissent se disposer le long de quatre hélices, une hélice de « hampes florales » et trois hélices foliaires.

La discussion de ces observations nous amène à penser ce qui suit :

Le passage du méristème de l'état asexué à l'état sexué est le fait de l'activation des différentes zones du méristème en *particulier de la zone axiale du corps et de la tunique*. Lorsqu'elle est activée, cette zone participe *directement* à la construction des hampes florales

Université de Liège
Laboratoire de Physiologie végétale
Centre des hormones végétales.

## INDEX DES AUTEURS CITÉS


1. — Grégoire, V., 1938. La morphogénèse et l'autonomie morphologique de l'appareil floral. I. Le Carpelle. *La Cellule*, **47**, p. 287.
2. — Hzu, J., 1944. Structure and Growth of the shoot apex of Sinocalomus beechyana Mc Clure, *Am. J. Bot.*, **31**, p. 404.
3. — Lawalrée, A., 1948. Organogénèse et histogénèse florale chez quelques Composées, *La Cellule.*, **52**, p. 213.
4. — Louis, J., 1935. L'ontogénèse du système conducteur dans la pousse feuillée des Dicotylées et des Gymnospermes., *La Cellule*, **44**, p. 87.
5. — Majumdar, G. P., 1942. The organisation of the shoot in Heracleum in the light of development. *Ann. Bot.*, **6**, p. 49.
6. — Mitra, G. G., 1945. The origin, development and morphology of the Ochrea in Polygonum orientale L, *J. Ind. Bot. Soc.*, **24**, p. 191.
7. — Philipson, 1946. Studies in the development of the inflorescence. I. The capitulum of Bellis perennis L., *Ann. Bot.*, **10**, p. 257.

   Philipson, 1947. Studies in the development of the inflorescence. II. The capitula of Succisa pratensis Moench. and Dipsacus fullonum L. *Ann. Bot.*,

   Philipson, 1947. Some observations on the apical meristems of leafy and flowering shoots. *Journ. Linnean Soc.*, London, **53**, p. 187.
8. — Plantefol, L., 1946. Fondements d'une théorie phyllotaxique nouvelle. *Ann. Sc. Natur. Botanique et Biologie végétale*, **7**, p. 153.
9. — Reeve R. M., 1948. The « tunica-corpus » concept and development of shoot apices in certain dicotyledons. *Am. Journ. Bot.*, **35**, p. 65.
10. — Satina S. et Blakeslee A. F., 1941. Periclinal chimeras in Datura stramonium in relation to the development of leaf and flower. *Am., J. Bot.*, **28**, p. 862.

    1943. Periclinal chimeras in Datura in relation to the development of the carpel *Am. J. Bot.* **30**, p. 453.
11. — Satina, Blakeslee A. F., et Avery A. G., 1940. Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of Datura by means of induced polyploidy in periclinal chimeras. *Am. J. Bot.*, **27**, p. 895.
12. — Schimper. K. Fr., 1829. Beschreibung des Symphytum zeyheri und seiner zwei deutscher Verwandten der S. bulbosum Schimper und S. tuberosum Jacq. 28e tome du Geigers Magasine für Pharmacie. Heidelberg.
13. — Schmidt A., 1924. Histologische Studien an Phanerogamen Vegetations Punkten. *Bot. Arch.* **8**, p. 345.

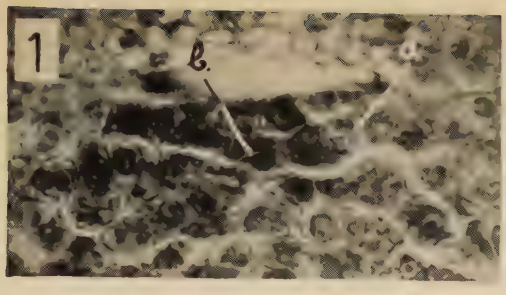
## EXPLICATIONS DES FIGURES DE LA PLANCHE →

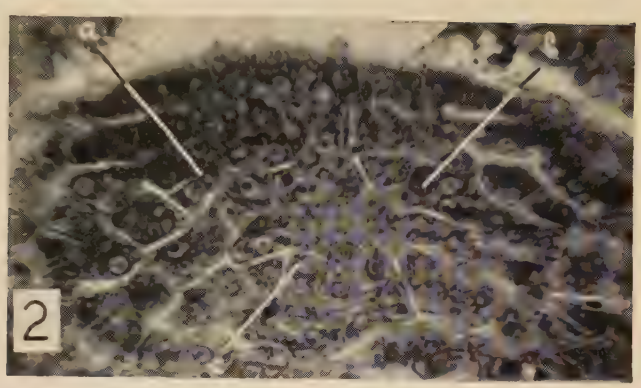
Fig. 1. Coupe longitudinale passant en 2 a (schéma 3) à travers un méristème sexué. Explications dans le texte. Gross. 600 ×

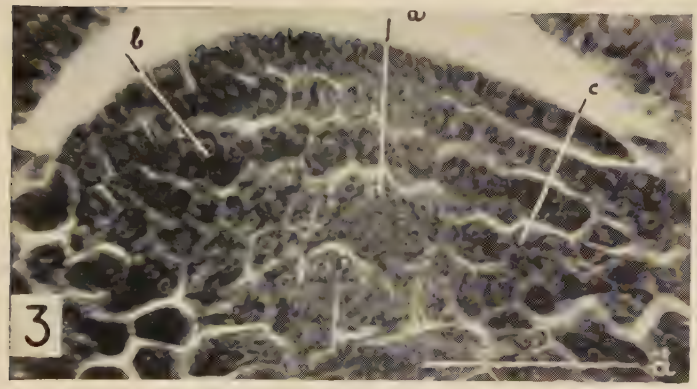
Fig. 2. Coupe longitudinale, passant en 2 b (schéma 3), à travers un méristème sexué. Explications dans le texte. Gross. 600 ×

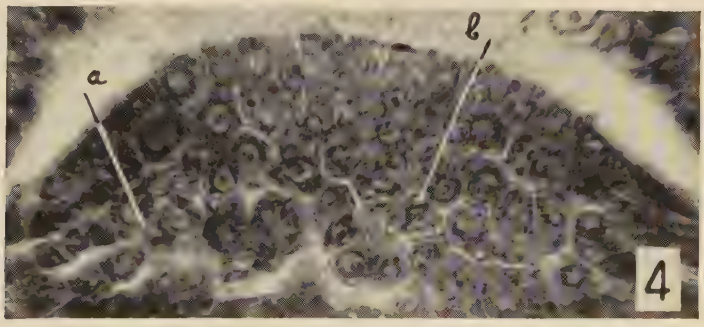
Fig. 3. Coupe longitudinale, passant en 2 c (schéma 3), à travers un méristème sexué. Explications dans le texte. Gross : 600 ×

Fig. 4. Coupe longitudinale, passant en 2 d (schéma 3), à travers un méristème sexué. Explications dans le texte. Gross : 600 ×


1
b


a
b
2


b
a
c
3


a
b
4

Extrait du *Bulletin de l'Académie royale de Belgique* (Classe des Sciences)
Séance du 11 juin 1949

BOTANIQUE

# Note sur les rapports entre la forme des feuilles et le développement du Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges,

par C. SIRONVAL.

Les faits que nous exposons dans cette note ont été observés en 1948, et au début de 1949 sur une variété de *Fragaria vesca* L. var. *semperflorens* Duch., dont les premières graines nous ont été fournies par la Maison Gonthier de Huy, sous le nom de : « Fraisier des quatre-saisons à fruits rouges ». Il s'agit d'une variété remontante et stolonifère.

Semé au début de mai, repiqué ensuite en pleine terre en juin, ce fraisier est en fleur vers la fin du mois de septembre. Il reste en fleur pendant l'automne ; il peut ensuite porter des fleurs et des fruits l'hiver, en serre, sans appoint de lumière supplémentaire. Nous avons récolté des fruits à la Noël de 1947 et de 1948.

* * *

Lorsqu'on suit ce fraisier pas à pas, on constate que, dans les conditions de semis de mai, la forme des feuilles change selon une certaine loi en relation étroite avec le développement de la plante. Nous avons surtout été frappé par les variations dans le nombre de dents des feuilles. Ces variations dépendent beaucoup des qualités de la graine, en particulier de son âge ; mais pour un lot déterminé de graines de même âge et dans les mêmes conditions de semis, elles sont constantes pour tous les exemplaires.

Voici comment les choses se passent pour les graines âgées de deux ans :

La germination a lieu huit jours après le semis. Peu après, la gemmule se met à croître. La *première feuille* est toujours monofoliée et compte cinq dents (suivre sur le diagramme 1). Il en va de même de la *deuxième feuille*, identique à la première, et souvent

(*) Presenté par M. le Prof. R. Bouillenne.

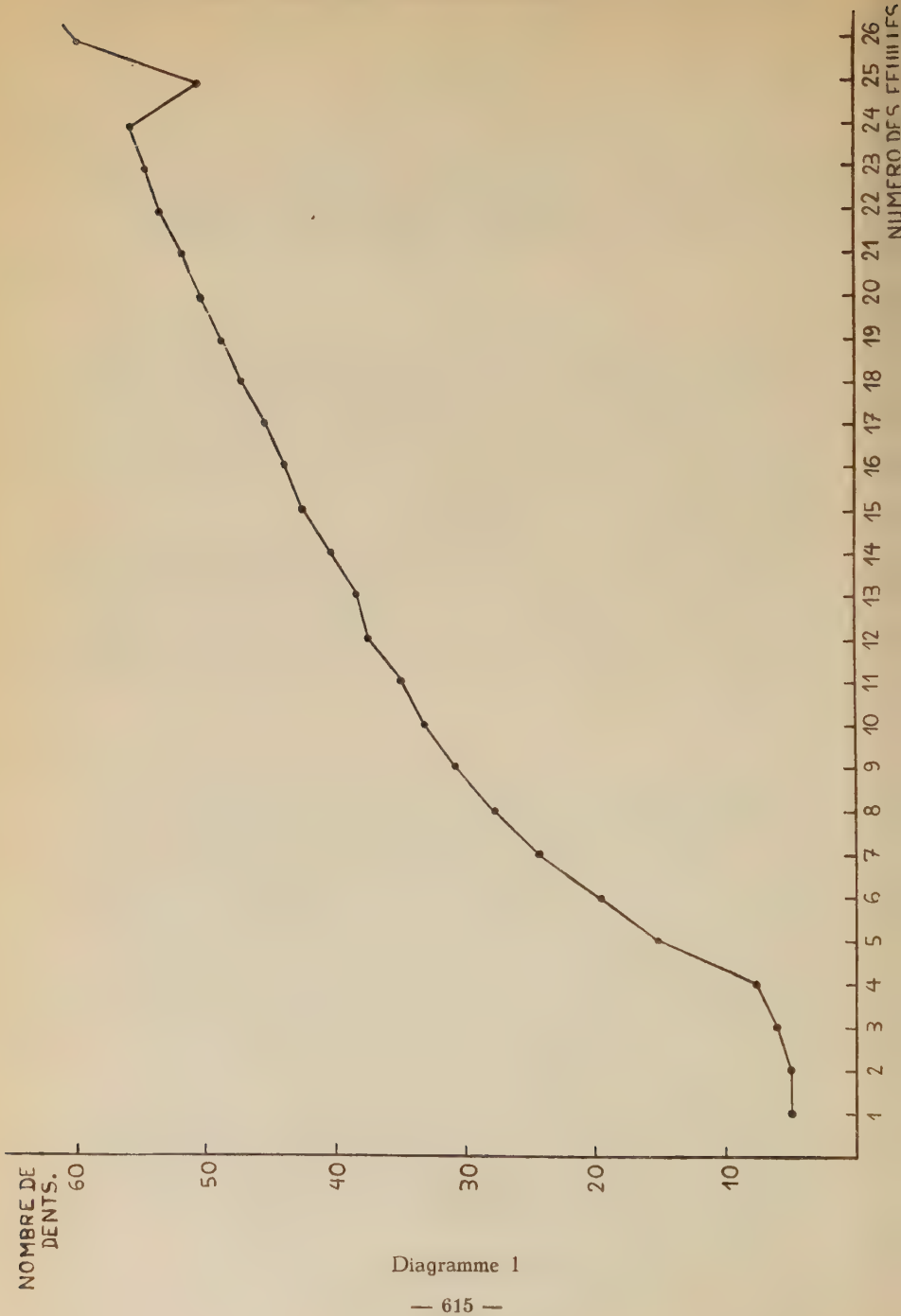

NOMBRE DE DENTS.
60
50
40
30
20
10
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
NUMERO DES FEUILLES

Diagramme 1

de la *troisième* qui compte six ou plus souvent sept dents. Dans le cas des sept dents, il peut se faire qu'elles soient réparties en deux folioles, l'un de cinq et l'autre de deux dents ; ou, plus rarement, en trois folioles, un foliole central de trois dents et deux folioles latéraux (gauche et droite) de deux dents chacun. La *quatrième feuille* compte de neuf à onze dents ; mais on peut aussi en trouver sept. Lorsqu'il y a sept dents, le limbe est généralement monofolié ; il peut être bi ou trifolié, quoique beaucoup plus rarement. Lorsqu'il y a de neuf à onze dents, par contre, le limbe est toujours trifolié ; le foliole central compte cinq dents, tandis que les deux folioles latéraux (gauche et droite) portent deux ou parfois trois dents.

*La cinquième feuille* est la première qui soit, sans exception, trifoliée Elle compte de douze à quinze dents réparties sur un foliole central à cinq dents et deux folioles latéraux à quatre dents chacun, ou plus rarement à quatre et trois dents respectivement, ou même, à quatre et cinq dents. Très rarement, les deux folioles latéraux ont tous deux cinq dents. TOUTES LES FEUILLES SUIVANTES SONT TRIFOLIÉES. Le nombre de dents augmente progressivement, se répartissant sur les trois folioles. On rencontre successivement des feuilles d'environ vingt dents (*sixième feuille*) ; puis de vingt-quatre dents (*septième feuille*). Avec la *neuvième feuille*, on atteint généralement les trente dents.

A ce moment, les premiers stolons sont en train de croître. L'apparition du premier stolon se fait souvent à la septième feuille, parfois un peu plus tard.

On dépasse les quarante dents avec la *quinzième feuille. Avec la vingt et unième feuille,* on dépasse les cinquante dents.

ON ASSISTE ALORS A DES PHÉNOMÈNES QUI PRÉPARENT LA FLORAISON DE LA PLANTE.

Le premier signe en est un abaissement dans le nombre de dents. D'une feuille à la suivante, et *pour la première fois depuis le semis, on constate une chute dans le nombre de dents.* En moyenne, cette chute est de trois à quatre dents. Il y a ensuite, généralement, une augmentation brusque d'une dizaine de dents.

Ce phénomène est bientôt suivi, parfois même est accompagné, d'un autre plus complexe, fort variable d'une plante à l'autre, — nous ne pouvons le discuter en détail ici — et qui aboutit

à la formation de deux méristèmes distincts à partir du méristème unique de la plante asexuée. Immédiatement après, une première hampe florale apparait ; parfois cette hampe grandit entre les deux méristèmes qui se constituent. Dans la suite, la plante fleurit périodiquement : elle est sexuée.

On assiste pendant toute la durée de la période sexuée à des *fluctuations* du nombre de dents des feuilles successives. Ces fluctuations sont liées à la floraison. La feuille qui grandit simultanément avec une hampe florale (dans l'échelle des temps), ou un peu après, a généralement un nombre de dents faible, qui peut être inférieur à quarante. Le nombre de dents de la feuille suivante est par contre élevé.

Chaque fois qu'une nouvelle hampe florale apparaît, le même phénomène se reproduit : le nombre de dents de la feuille qui grandit avec elle, ou un peu après, est bas. A la feuille suivante, on trouve de nouveau beaucoup de dents (plus de cinquante), et ainsi de suite.

Ces fluctuations se poursuivent de hampes florales à hampes florales.

Pendant toute la période sexuée, le nombre moyen de dents des feuilles plafonne aux environs de cinquante à soixante.

* * *

Krenke travaillant sur le cotonnier (*Gossypium* L.) a publié en 1933 un travail dans lequel il montre que la floraison se produit lorsque les feuilles possèdent un certain nombre de dents. Nous n'avons pas pu jusqu'ici nous procurer ce travail, mais, dans un article de la revue « Endeavour », publié en janvier 1949, Ashby écrit : « Krenke a fait un tableau du degré de dentelure de la première, deuxième, troisième feuille, etc... sur une tige par rapport au rang du nœud, obtenant des courbes d'allure générale *a b c d e* (diagr. 2). Il a prétendu que l'allure de sa courbe représentait le degré de vieillissement de la plante : les ordonnées représentent l'âge physiologique et les abscisses les unités d'une échelle de développement distinctes d'une échelle d'âge réel. Conformément à cette hypothèse, les conditions extérieures qui hâtent la floraison augmentent la pente de la courbe *ab* et la forme définitive *c* est atteinte à un nœud relativement peu élevé. Les

conditions qui retardent la floraison, diminuent la pente de la courbe *ab* et la forme *c* est atteinte à nœud plus élevé ».

Ashby pense : « qu'il n'y a, à l'heure actuelle, aucune base théorique suffisante à l'hypothèse de Krenke ».

Il semble toutefois, d'après nos observations, que le nombre de dents des feuilles du fraisier des quatre-saisons à fruits rouges reflète d'une façon satisfaisante l'âge physiologique de la plante.

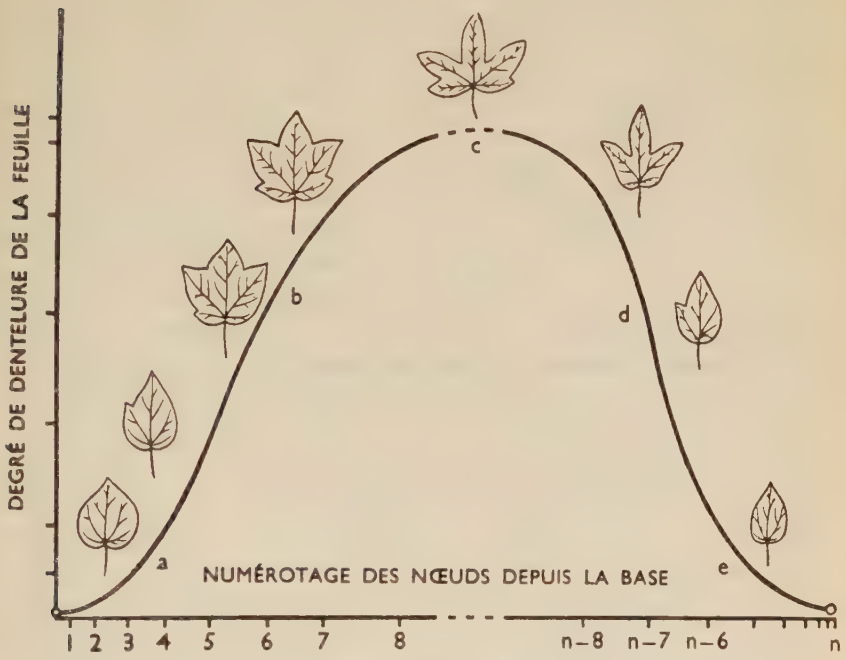



Diagramme 2

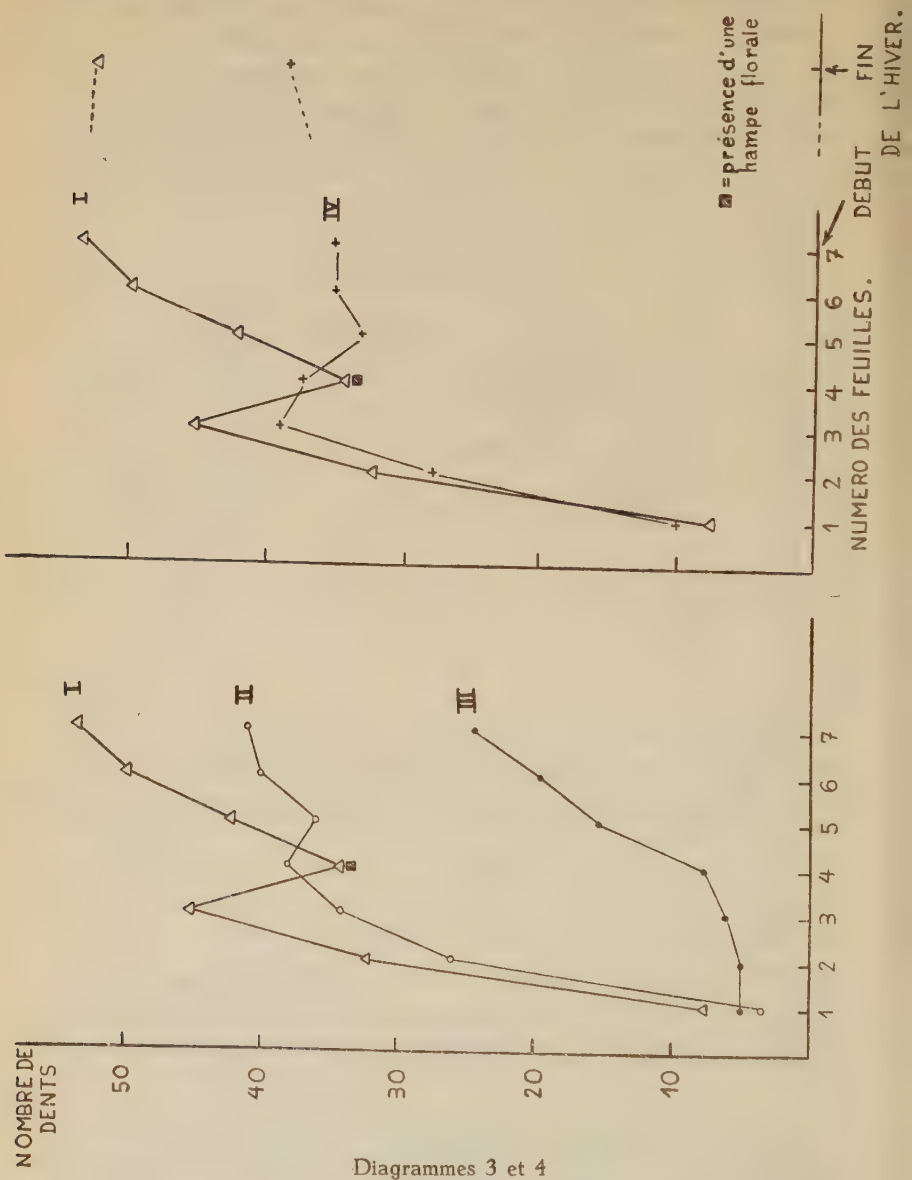
Ce diagramme est repris de l'article de Asbhy dans la revue *Endeavour*. Il a été réalisé d'après un dessin de E. H. Roberts.

Cette opinion est étayée par des expériences réalisées sur les *plants* (bourgeons) qui se forment aux nœuds des stolons. Notre fraisier en produit un grand nombre, avant et pendant la floraison.

On peut étudier, par exemple, l'évolution du nombre de dents des feuilles successives d'un plant en contact avec une plante-mère qui est sexuée.

Dans ce cas, la première feuille du plant peut avoir une

vingtaine de dents, bien que, sur un grand nombre d'exemplaires, la moyenne est voisine de dix (diagrammes 3 et 4, courbe J). La




Diagrammes 3 et 4

La courbe III du diagramme 3 est la reproduction de la courbe du diagramme 1 ; elle concerne le nombre des dents des 7 premières feuilles des plantules.

*deuxième feuille*, trifoliée, a trente dents, soit une vingtaine de dents en plus. La *troisième feuille* a quarante-cinq dents, soit une quinzaine de dents en plus.

Chez la plupart des plants, la floraison a lieu après la croissance de cette feuille. Elle se produit donc à un moment où le plant ne possède pas de feuille de cinquante ou soixante dents. On assiste alors à une chute du nombre de dents chez la *quatrième feuille* (en dessous de quarante dents) ; mais, la *cinquième feuille* nous reporte au-dessus de quarante dents, et à la *sixième feuille*, on est au « niveau » de cinquante à soixante dents. La floraison continue dans tous les cas d'une façon régulière ; le « niveau » des feuilles plafonne à cinquante-soixante dents.

On n'arrête pas la floraison si on rompt, à ce moment, le filet qui relie le plant à la plante-mère sexuée : isolé de sa plante-mère le plant continue à fleurir de lui-même et fait des feuilles de cinquante-soixante dents.

Il n'en va pas de même si on isole le plant lorsqu'il est très jeune, par exemple, lorsqu'il est muni de ses deux premières feuilles. Dans ce cas, la *troisième feuille* a généralement quarante dents (diagramme 4, courbe IV) ; on n'observe pas de floraison après la croissance de cette feuille ; parfois, on trouve une hampe florale dont la floraison a avorté. La *quatrième feuille* a moins de dents que la troisième ; la *cinquième feuille* moins encore. Parallèlement, on ne constate pas la moindre floraison du plant. Les feuilles se suivent ; le niveau de trente-cinq-quarante dents, atteint avec la cinquième et la sixième feuille, se relève lentement suivant la même courbe que celle qui caractérise les plants de semis (diagramme I). En une quinzaine de feuilles, on arrive au « niveau » de cinquante-soixante dents ; la floraison a lieu alors.

Il apparaît clairement qu'un plant muni de deux feuilles, respectivement de dix et trente dents, est incapable de fleurir seul. S'il le fait lorsqu'il est au contact d'une plante-mère sexuée munie de cinquante à soixante dents, c'est qu'il en reçoit quelque chose. De soi-même, ce plant ne fleurit que lorsque ses feuilles sont de cinquante à soixante dents.

La plante-mère sexuée provoque, outre la floraison hâtive du plant en contact, une augmentation rapide du nombre de dents

de ses feuilles successives. On atteint en six ou sept feuilles le « niveau » de cinquante-soixante dents qui permet au plant de fleurir seul. Le plant en contact parcourt en six feuilles le chemin qui demande quinze à vingt feuilles au plant isolé ou à la plante de semis. *En fait, la plante-mère sexuée redresse chez le plant, la courbe* ab *de* KRENKE ; *elle hâte le développement de ses feuilles et l'avènement du stade sexué* (comparer les courbes I et III du diagramme 3).

Les plantes-mères asexuées agissent d'ailleurs d'une façon analogue. Ainsi, les plants en contact avec des plantes-mères de quarante dents obtenues de semis ont une première feuille réduite à l'état de bractée. Elle a peu de dents, en moyenne quatre (diagramme 3, courbe II).

La *deuxième feuille* en a vingt-cinq environ, beaucoup plus que la première ; mais moins que n'en a la deuxième feuille d'un plant en contact avec une plante-mère sexuée.

La *troisième feuille* atteint trente-cinq dents. La *quatrième feuille* a quarante dents.

En quatre feuilles, le plant atteint le « niveau » de la plante-mère. A ce moment, le nombre de dents des feuilles successives du plant augmente selon la courbe suivie par les feuilles de la plante-mère. Plant et plante-mère fleurissent simultanément. (1)

* * *

D'autres actions que l'isolement par coupure des filets agissent sur la courbe du nombre de dents des feuilles des plants. Diverses expériences en cours montrent qu'une photopériode de huit et de dix heures ralentit l'augmentation du nombre de dents. En jours courts, les plants munis de deux feuilles, isolés d'une plante-mère sexuée, font avec peine des feuilles de plus de quarante dents et *n'arrivent pas à fleurir.*

Nous avons maintenu des plants de plantes-mères sexuées, isolés au début du mois de septembre 1948, pendant tout l'hiver 1948-1949, jusqu'à mi-mars, en serre, sans observer une forte

(1) Tous ces faits s'accordent dans l'essentiel avec les observations de HARDER sur Kalanchoe. Il est clair que la plante-mère agit sur la forme des feuilles des plants.

augmentation du nombre de dents des feuilles et sans la moindre floraison (diagramme 4, courbe IV).

Le nombre de dents augmente toutefois au printemps, avec la longueur du jour. Vers la mi-avril, nous trouvons des feuilles de cinquante dents ; vers la mi-mai, les premiers plants fleurissent (diagramme 5).

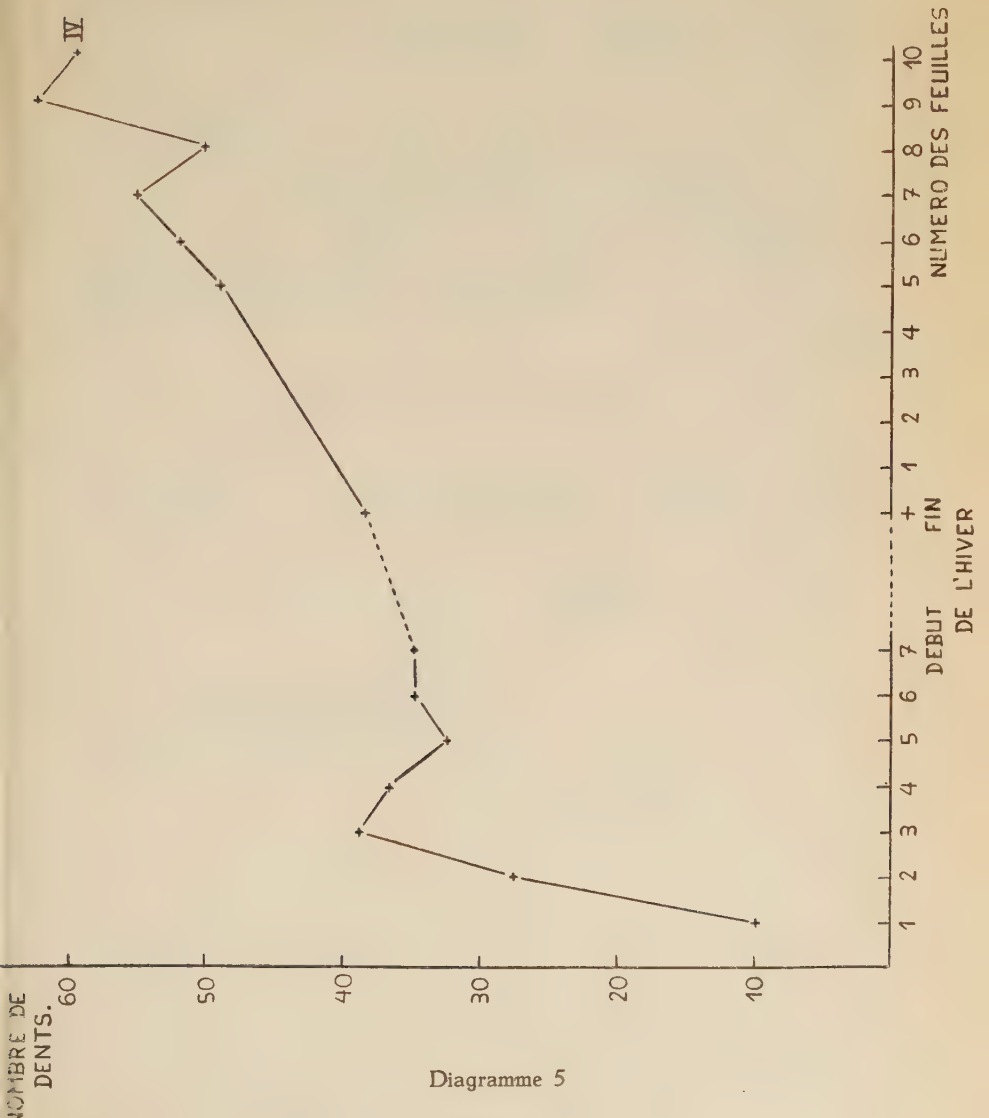



Diagramme 5

* * *

Il apparaît ainsi que :

1° *Il y a une relation entre le nombre de dents des feuilles et la floraison.*

Lorsque les feuilles d'une plante qui jusque là est asexuée atteignent le « niveau » de cinquante dents, cette plante va fleurir.

2° *Certains facteurs agissent sur le nombre de dents des feuilles.*

Le contact avec une plante-mère sexuée ou asexuée hâte l'augmentation du nombre de dents chez les plants.

L'augmentation est très rapide en contact avec une plante-mère sexuée.

L'application d'une photopériode courte retarde l'augmentation du nombre des dents chez les plants qui sont isolés de leur plante-mère.

3° *Ces facteurs agissent aussi sur la floraison.*

*Il en résulte que la forme des feuilles, en particulier, le nombre de leurs dents, peut servir à estimer l'état de développement (âge physiologique) du Fraisier des quatre-saisons à fruits-rouges.*

Dans ce cas, l'hypothèse de KRENKE paraît fondée.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
(*Institut Botanique,*
*Laboratoire de physiologie végétale*).

## AUTEURS CITÉS

ASHBY Eric. — De la forme des feuilles et de leur rapport avec l'âge physiologique des plantes. *Endeavour* : vol VIII, n° 29, p. 18-25, 1949.

HARDER Richard. — Vegetative and reproductive development of Kalanchoe blossfeldiana as influenced by photoperiodism — dans : « Growth in relation to differentiation and morphogenesis » — Symposia of the society for experimental biology — p. 117-137, *University Press*, Cambridge, 1948.

KRENKE N. P. — A morphogenetical analysis of the cotton tree (Gossypium L.) with some general considerations. The variability of the leaves — dans : « Phänogenetische Entwiklung » — Sammel-Werk der Abteilung für Phytomorphogenese des Timiriaseff Instituts für Biologie — Moscou, 1933.

Publications du Centre d'Etudes des Hormones Végétales,
LIÈGE
III.

# LA CULTURE DES TISSUS VÉGÉTAUX

## SON IMPORTANCE THÉORIQUE ET PRATIQUE

par André WILLAM,
Docteur en Sciences,
Chef de Travaux à l'Institut de Botanique de l'Université de Liége

E DÉVELOPPEMENT des acquisitions de l'humanité revêt un caractère double : celui des découvertes théoriques qui, à première vue, ne semblent avoir que des rapports éloignés avec les besoins matériels de l'homme et celui des applications d'ordre immédiatement tique.

En réalité, ces deux aspects du progrès sont intimement mêlés. Les recherches purement oriques aboutissent le plus souvent à des résultats pratiques inattendus et dont les multiples ercussions se manifestent tous les jours. L'exemple de la découverte des ondes hertziennes de ses applications dans la radio, le radar et d'autres domaines est devenu classique. tilisation des « hormones végétales », comme aboutissement des recherches de F. DARWIN, sur tropismes des coléoptiles d'avoine, vient tout récemment encore d'illustrer ce point de vue.

La biologie végétale s'est enrichie ces dernières années d'une nouvelle voie d'étude : la ture des tissus.

La technique de la culture des tissus végétaux, mise au point durant la dernière décade, venue apporter aux chercheurs un outil dont l'emploi promet d'être des plus fécond.

Nous allons examiner brièvement comment cette technique s'est développée, en quoi elle siste, quels résultats importants elle a déjà permis d'obtenir et, enfin, quelques-uns des blèmes dont elle permet d'aborder l'étude sous un angle nouveau.

### APERÇU HISTORIQUE

La culture des tissus consiste à prélever un fragment d'organe, à le « cultiver » dans un lieu artificiel pour tenter d'obtenir sa croissance « illimitée ».

Ce problème intéresse les physiologistes depuis longtemps. C'est un botaniste, HABERLANDT 902) qui, le premier, en conçut l'idée et a tenté de la réaliser. Malheureusement, il s'est ressé à des tissus — principalement des parenchymes et des épidermes — hautement différen- s ne possédant plus, en général, les facultés de mitoses qui caractérisent les tissus plus ou ins embryonnaires, comme les méristèmes et le cambium. Aussi, ces expériences aboutirent n échec et elles amenèrent certains botanistes, tel KUSTER (1928) à considérer la culture des sus végétaux comme pratiquement irréalisable.

La question fut reprise sur les tissus animaux, par HARRISSON (1908) d'abord, et ensuite se au point par CARREL (1911) qui réalisa la culture indéfinie de tissus de poulet dans un lieu artificiel contenant des extraits embryonnaires.

Plusieurs années après, les botanistes abordèrent de nouveau le sujet ; KOTTE (1922) et BBINS (1922) réussirent à cultiver des pointes radiculaires. Malheureusement, ces racines rirent après vingt semaines.

C'est au célèbre physiologiste américain P. R. WHITE (1934) que revient l'honneur de liser le premier la culture indéfinie de pointes radiculaires. Le milieu artificiel qu'il employa ntenait, outre divers sels minéraux et des sucres, de l'extrait de levure. Par des études longues minutieuses, WHITE arriva à remplacer l'extrait de levure par quelques vitamines et acides inés.

Il réalisa ainsi la culture de pointes radiculaires sur un milieu synthétique dont *tous* les ments étaient parfaitement connus. Du coup, il *dépassait* les résultats obtenus sur les tissus maux, où l'on était toujours obligé d'ajouter aux milieux de culture un complexe de sub- nces mal connues : plasma sanguin, de jus d'embryon, etc [1].

1. WHITE poursuit activement à l'« Institute for Cancer Research » de Philadelphie, la mise au point d'un ieu entièrement synthétique pour la culture des tissus animaux.

Cependant, malgré ces résultats remarquables, on devait considérer que WHITE av réalisé des cultures d'organes — des racines — plutôt que des cultures de tissus.

Et ce n'est qu'en 1939, que simultanément GAUTHERET d'une part et NOBECOURT d'au part, en France, et WHITE aux Etats-Unis, réalisent enfin la culture indéfinie de tissus vég taux. GAUTHERET et NOBECOURT utilisèrent le cambium de diverses plantes, tandis que WHI obtint ses premiers résultats sur des cultures de cals.

## PRINCIPES DE LA TECHNIQUE

La culture des tissus végétaux impose trois conditions :

1) elle doit être réalisée en *milieu aseptique*, sinon les bactéries et champignons auraie vite fait de contaminer le milieu et d'amener finalement la mort des tissus ;

2) les tissus doivent être placés dans un *milieu nutritif* approprié ;

3) enfin, les *cellules des tissus doivent se multiplier* afin de permettre le repiquage c cultures après un certain temps et réaliser ainsi une *culture dont la vie est pratiqueme indéfinie.*

### 1. - ASEPSIE

Le problème de l'asepsie est relativement simple en ce qui concerne la stérilisation c milieux de culture et des instruments. Nous n'en parlerons pas ici.

Il est beaucoup plus compliqué quant au matériel végétal lui-même. En effet, on peut utiliser dans ce cas les moyens drastiques habituellement employés.

Il faut donc arriver à isoler un fragment de plante qui soit naturellement aseptique.

Pour cela, on peut, comme DELARGE (1938) le faisait à l'Institut de Botanique de l'Ur versité de Liége, réaliser la culture de plantules à partir de graines préalablement aseptisé On isole ensuite sur ces plantules un fragment d'organe ou de tissu.

Ou bien, selon la technique utilisée par GAUTHERET, on désinfecte, par exemple au moy d'une solution d'eau de Javelle, la partie externe d'un fragment de plante. On élimine l portions tuées par la stérilisation et l'on prélève des tissus du centre de l'organe.

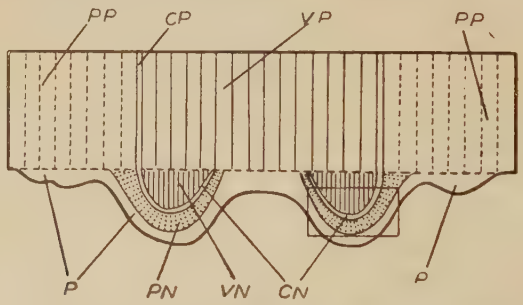



FIG. 1. — Coupe schématique transversale d'une tranche de Carotte en culture. La face inférieure de la tranche a produit un volumineux cal. *Tissus initiaux : PP,* phloème (liber) ; *CP,* cambium ; *VP,* parenchyme vasculaire. — *Tissus formés en culture : P,* parenchyme ; *PN,* phloème (liber) ; *VN,* parenchyme vasculaire ; *CN,* cambium. — Le morceau de cal délimité sur la figure par le rectangle est le fragment utilisé pour le premier repiquage. (D'après R. GAUTHERET, Plant Tissue Culture, p. 26.)

Toutes ces opérations doivent évidemment être réalisées dans les conditions d'asepsie l plus rigoureuses. Elles ont lieu dans des chambres spécialement aménagées à cet effet. L détails de ces manipulations sont minutieusement décrits dans les ouvrages de GAUTHERE (1942) et de WHITE (1943).

### 2. - MILIEUX DE CULTURE

Le milieu de culture doit contenir les éléments qui permettent non seulement la «survi des fragments isolés mais encore leur croissance et leur maintien en vie pendant un tem pratiquement illimité.

C'est ce que CARREL avait réalisé pour ses cultures de tissus d'embryon de poul Ces cultures, commencées en 1911, sont encore en vie à l'heure actuelle.

La mise au point de ces milieux a été longue et laborieuse et c'est à WHITE qu'en revient ncipalement le mérite, en ce qui concerne le matériel végétal.

D'une manière générale, ces milieux renferment, outre des carbohydrates et divers sels néraux, des acides aminés, des vitamines et des « hormones » comme les acides indol-acétique naphtalène acétique.

Voici à titre d'information, la constitution du milieu de culture le plus souvent utilisé 'Institut de Botanique de l'Université de Liége. C'est le milieu de R. GAUTHERET modifié et mplété par M. BOUILLENNE-WALRAND et A. WILLAM.

| | Mg/litre de solution | | Mg/litre de solution |
|---|---|---|---|
| rate calcique | 500 | Chlorure de Sodium | 0,010 |
| trate potassique | 125 | Chlorure de Nickel | 0,010 |
| fate de magnésie | 125 | Acide indol acétique | 0,010 |
| osphate bipotassique | 125 | Vitamine $B_1$ | 0,100 |
| dorure ferrique | 1,000 | Vitamine $B_6$ | 0,010 |
| ide molybdique | 0,010 | Acide nicotinique | 0,500 |
| ide borique | 0,010 | Acide ascorbique | 1,000 |
| fate de cuivre | 0,010 | Sulfate d'adénine | 0,500 |
| fate de zinc | 0,010 | Pantothénate calcique | 0,250 |
| dorure de manganèse | 0,010 | Glycocolle | 1,000 |
| ure de Potasse | 0,010 | Alanine α | 1,000 |

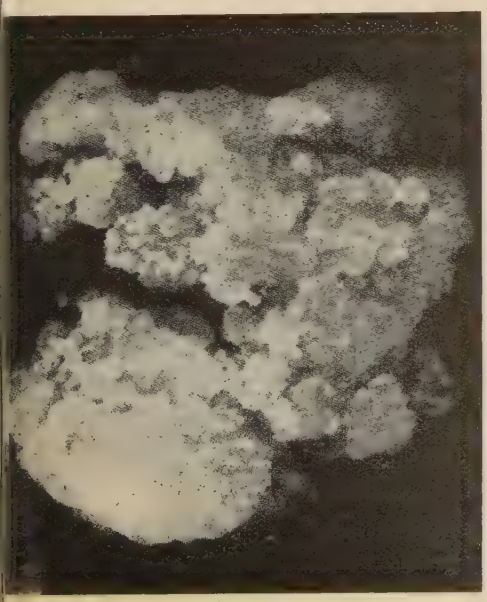
Les cultures sont rarement réalisées en milieu liquide mais plutôt sur milieu gélosé à 1,2 % ttubes ou en Erlenmeyer.

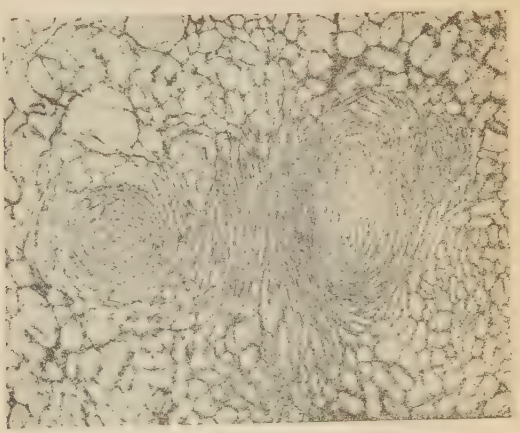
## 3. - CROISSANCE DES TISSUS EN CULTURE

L'expression « culture de tissus » ne signifie pas que l'on puisse cultiver n'importe quel u parenchymateux, liberien, ligneux de telle façon que celui-ci continue à croître et à con- ver son aspect morphologique et ses potentialités chimiques. Il s'agit, en fait, de culture de us indifférenciés de cals qui, après un certain temps, se différencient légèrement (fig. 1, t 3).

Les tissus isolés doivent posséder la capacité de croître par divisions cellulaires. En effet, es cellules ne se divisent pas, le fragment ne sera capable que de « survivre » pendant un aps plus ou moins long, mais il ne manifestera pas la caractéristique essentielle des cultures tissus : une vie active théoriquement illimitée, comme les premières cultures de CARREL.

Pour cela, il convient de s'adresser à des cellules qui possèdent encore les caractéristiques tissus embryonnaires.





↑ FIG. 2. — Fragment d'une coupe de culture de tissus de Carotte. Remarquer l'absence de tissus conducteurs ligneux ou liberiens différenciés. (D'après R. GAUTHERET, Manuel technique de culture des tissus végétaux, p. 104.)

←— FIG. 3. — Colonie de tissus de Carotte en culture âgée de 45 jours, après le 39e repiquage. (D'après R. GAUTHERET, Plant Tissue Culture, p. 28.)

C'est ce point important qui avait attiré la sagace attention de GAUTHERET, ce qui lui permis d'arriver à de brillants résultats.

A l'heure actuelle, la culture des tissus est une technique suffisamment mise au point po être un outil de plus en plus indispensable dans tous les laboratoires de physiologie végéta Nous allons voir son utilité dans la solution de problèmes tant d'ordre scientifique que pratiq

## PROBLÈMES D'ORDRE SCIENTIFIQUE

L'utilisation de cette technique réalise des conditions qui permettent une connaissan plus approfondie des processus physiologiques et histologiques des tissus.

Dans l'organisme, ces tissus sont difficilement accessibles à l'expérimentation. En outre, sont soumis au jeu des corrélations de diverses natures qui s'exercent d'une partie de la pla sur l'autre.

Dans une culture de tissus, celui-ci, pourrait-on dire, est laissé à ses propres potentialit Il est clair que la connaissance de ces potentialités apportera par comparaison, une lumiè intéressante sur le déroulement des corrélations dans l'organisme complet.

GAUTHERET a pu préciser les modalités d'action des hétéroauxines sur la culture des tiss spécialement en ce qui concerne la formation des cals indifférenciés, le développement cambi l'apparition de racines, l'inhibition des bourgeons.

G. CAMUS, collaborateur du Professeur GAUTHERET, grâce à l'utilisation de la techniq de culture de tissu, précise l'action histogène des bourgeons. Ce chercheur réalise, *in vitro*, c greffes de bourgeon sur des tissus en culture incapables de se modifier spontanément. L'actio du bourgeon s'exerce, dans ces conditions, après avoir traversé la région de soudure et l'interp sition d'un film de cellophane entre greffon et sujet ne modifie en rien cette action. Celle-i consiste en une dédifférenciation préalable des tissus, suivie d'une redifférenciation vasculai nouvelle.

Cette influence du bourgeon est polarisée et ne s'exerce que dans le sens feuille-racine.

La culture des tissus permet en outre de suivre l'évolution des tissus au cours du temps, apr des périodes où l'organisme complet serait déjà mort. Ceci amène à des constatations intére santes. C'est ainsi que GAUTHERET a observé que, après de nombreux repiquages, les tissus carottes par exemple présentent un « phénomène d'accoutumance » à l'hétéroauxine :

Lors des premiers repiquages, il est nécessaire d'ajouter au milieu des hétéroauxines, ma plus tard, celles-ci ne sont plus nécessaires, les tissus effectuant eux-mêmes les synthèses de c substances de croissance. (Z. KULESCHA, 1948.)

WHITE a démontré l'existence d'une « pression radiculaire » dans les cultures de racin responsable du mouvement de l'eau et des sels dans le xylème.

Cette technique sera sans doute très utile aussi dans la question fondamentale de l'absor tion et de l'accumulation des ions minéraux et des substances organiques par les cellules vég tales.

Nous pensons qu'elle est de nature à fournir des données intéressantes dans les problèm des synthèses biologiques des osides (amidon, saccharose, etc.), des alcaloïdes, etc. C'est ain que DAWSON (1942) a pu démontrer que dans le tabac, la nicotine était synthétisée dans l racines.

La culture des tissus apporte chaque jour des nouvelles possibilités d'action en physiolog végétale. Elle éclairera sans doute aussi les questions importantes d'ordre histologique et cyt logique ainsi que le laissent entrevoir les premiers résultats déjà publiés.

## PERSPECTIVES DE RÉSULTATS D'ORDRE PRATIQUE

Le problème de la vieillesse hante l'homme depuis des temps immémoriaux, Les élixirs « longue vie » ont fait fortune.

Or, la culture des tissus réalise la croissance pratiquement illimitée d'une portion d'u organisme supérieur. On peut espérer que cette technique apportera une contribution intéressan au problème du vieillissement des cellules dans l'organisme complet et permettra ainsi peut-êt de prolonger la vie.

Un autre problème qui préoccupe l'homme moderne est celui du cancer. Les statistiqu révèlent une recrudescence inquiétante de ce mal redoutable. Les Etats-Unis dépensent chaq année des millions de dollars à son étude.

Jusque tout récemment, il était admis qu'il n'existe pas de véritable cancer chez les plante La seule tumeur ayant une certaine ressemblance avec les tumeurs cancéreuses des animaux des hommes est le Crown-Gall que l'on rencontre fréquemment au collet de certaines plant

Fig. 4. — Tumeur produite par l'inoculation du *Phytomonas tumefaciens* dans une tige de Pelargonium. (D'après *La Revue Scientifique*, 11, 1947, p. 654.)

g. 4). En effet, tout comme les véritables cancers, ces tissus ont une capacité de prolifération eptionnelle, ne possèdent pas de véritable structure anatomique et produisent des métastases.

Mais une différence capitale existe entre Crown-Gall et cancer : elle réside dans le fait que gent causal du Crown-Gall est une bactérie bien connue, le *Phytomonas tumefaciens*, alors : rien de semblable n'existe pour les néoplasmes du règne animal.

Or, White est parvenu à faire croître des Crown-Gall en l'absence complète de Phytonas et ses cultures conservent néanmoins tous leurs caractères de cellules cancéreuses (exiuces nutritives atténuées, croissance exubérante, structure anarchique, etc.).

Fait des plus intéressant : ces cultures pures de Crown-Gall s'apparentent très fort aux tures accoutumées de Gautheret.

Afin d'étudier la biologie du cancer végétal d'une façon tout à fait approfondie, Gaueret et ses collaborateurs expérimentent simultanément les tissus normaux, les tissus de own-Gall et les tissus accoutumés des mêmes espèces végétales.

On est en droit de fonder sur ces recherches les plus grands espoirs.

Mais ce n'est pas la seule application qui ait été faite de la culture des tissus dans le maine de la pathologie. Son utilisation promet d'apporter une aide efficace dans la lutte des ladies à virus des plantes.

On sait que les virus ne peuvent être cultivés en dehors de leur hôte vivant. Or, on est venu à obtenir certains virus, tel celui de la mosaïque du tabac, sur des cultures de racines 'HITE) et même de tissus (Secrétain, Morel).

C'est grâce à l'utilisation de culture de tissus de vigne que Morel est parvenu récemment faire croître *in vitro* des champignons parasites obligatoires tels que le Mildiou et l'Oïdium. l'instar des virus, ces champignons ne peuvent être obtenus sur les milieux communément lisés en microbiologie.

Morel a triomphé de cette difficulté et a apporté ainsi une importante contribution à pathologie.

En conclusion, la culture des tissus végétaux constitue à l'heure actuelle un moyen d'investation de la plus grande efficacité. Après une période de mise au point laborieuse, elle a s rang parmi les techniques de choix des laboratoires de biologie et de phytopathologie gétales.

## Bibliographie


. Bouillenne et M. Bouillenne-Walrand, 1947 : Contribution à l'étude de la Rhizocaline, *Lejeunia*, *11* (2), 17-36.
. Camus, 1948 : Thèse doctorale, non encore publiée, Université de Paris, Faculté des Sciences.
. Delarge, 1941 : (Mémoire posthume). *Soc. Roy. Sci. Liége* ; 2e série, no 5.
. J. Gautheret, 1942 : Manuel technique de culture de tissus végétaux, Masson, Paris.
. J. Gautheret, 1945 : La culture des tissus végétaux, Gallimard, Paris.
. J. Gautheret, 1947 : Plant Tissue Culture, Sixth Growth Symposium, U. S. A.
. Morel et R. J. Gautheret, 1947 : Pathologie végétale et culture de tissus, *Revue Scientifique*, Juillet 1947.
. Nobecourt, 1943 : La culture des tissus et des organes végétaux, *Revue Scientifique*, 1er mai 1943.
White, 1943 : A Handbook of Plant Tissue Culture, Cattel Lancaster, Pennsylvania.

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1948

# TECHNIQUE NOUVELLE

de

# CULTURE DE RACINES IN VITRO

par

**A. WILLAM,** Dr. Sc.

La culture des racines in vitro est devenue, à la suite des travaux de Bonner J., Delarge L., Gautheret R., Robbins W. et White S., une technique d'un emploi courant dans les laboratoires de Physiologie végétale.

Elle consiste à faire germer aseptiquement des graines, à isoler l'extrémité méristématique et à faire croître celle-ci sur un milieu nutritif stérile.

La culture s'effectue généralement en milieu liquide soit en erlenmeyer, soit en boîtes de Pétri, dans des conditions de température et de lumière bien déterminées.

Après un certain nombre de jours de culture, variable suivant l'espèce cultivée et les conditions du milieu, on procède au repiquage en isolant de nouveau des extrémités méristématiques que l'on transporte dans un milieu nutritif fraîchement préparé.

Les solutions utilisées sont des mélanges soigneusement choisis et dosés de sels minéraux, de glucides et de substances de croissance (eau de levure ou vitamines et acides aminés). Cette technique a permis d'obtenir la croissance illimitée de racines de nombreuses plantes : radis, tomate, froment, etc.

Remarquons toutefois que les racines de dicotylées ainsi cultivées se ramifient normalement, mais restent toujours filiformes : elles ne possèdent pas de structures secondaires bien développées.

Afin d'étudier la biologie des tissus secondaires, nous avons été amené à mettre au point une technique de culture des racines in vitro qui s'écarte le moins possible des conditions naturelles de vie des racines.

Lorsque la plante est entière, la racine a pour fonctions principales de maintenir la plante fixée au sol et y puiser de l'eau et des sels minéraux. Les techniques d'aquiculture démontrent à suffisance que des plantes supérieures chlorophylliennes, prélevant par leurs racines uniquement de l'eau et des sels, peuvent accomplir normalement le cycle complet de leur développement.

Quant aux matières organiques (glucides et substances de croissance), elles sont synthétisées dans les organes chlorophylliens et délivrées à la racine, grâce aux tissus conducteurs suivant des rythmes et des gradients bien définis.

Lorsque l'on fait absorber par une racine détachée de la plante, une solution où matières minérales et matières organiques sont mélangées, on se place dans des conditions absolument anormales.

La technique que nous préconisons consiste à faire absorber par la racine en culture l'eau et les sels minéraux par une extrémité — extrémité méristématique — et par l'autre, les matières organiques.

La culture s'effectue en tubes en pyrex de 200 mm. de long et 20 mm. de large.

A 6 cm. du bord supérieur, la paroi de verre a été repoussée vers l'intérieur en trois points situés dans le même plan, mais distants de 120° de façon à réaliser trois aspérités comparables à celles d'une colonne à distillation fractionnée de Vigreux.

Le tube est obturé par un bouchon de coton non hydrophile traversé par un tube coudé à angle aigu d'un centimètre de diamètre. Ce tube est effilé à une extrémité et soudé à l'autre.

Le mode opératoire est le suivant :

1) Introduire dans les tubes de culture 10 cc. de milieu minéral.

2) Disposer sur les aspérités un fin feutrage d'ouate.

3) Boucher les tubes avec un tampon de coton non hydrophile (bouchon a) et les stériliser à l'autoclave.

4) Désinfecter les graines et placer dans chaque tube stérile une graine. Boucher le tube.

5) Pencher légèrement le tube afin d'imbiber l'ouate de liquide et mettre les tubes verticalement dans la chambre de culture.

6) Lorsque la germination a eu lieu, sectionner la plantule à la base de l'hypocotyle et ne laisser que la racine qui traverse l'ouate et s'enfonce vers le fond du tube.

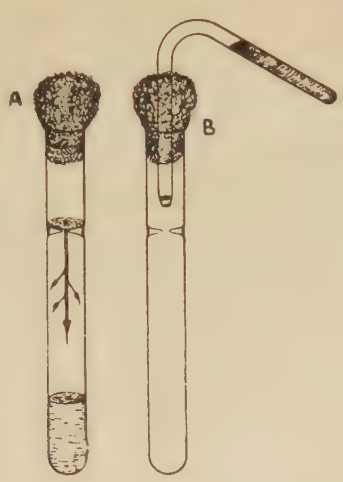
7) Introduire la solution organique dans les tubes coudés en les remplissant au tiers seulement.

Maintenir les tubes coudés — l'extrémité effilée verticale — sur des tubes vides à l'aide d'un bouchon de coton non hydrophile (bouchon b). Stériliser les tubes à l'autoclave.

8) Interchanger les bouchons des tubes renfermant les cultures de racine (bouchons a) avec les bouchons b.

Procéder de telle façon que l'extrémité supérieure de la racine pénètre de un à deux mm. dans l'extrémité effilée du tube coudé.

9) Replacer les tubes en chambre de culture en les maintenant verticalement.




Une fois par jour on penche alternativement le tube d'un côté afin de mettre les racines en contact avec le milieu minéral puis de l'autre côté afin d'imbiber le sommet de la racine d'une gouttelette ou deux de solution organique.

Lorsque la racine en culture in vitro a atteint un certain développement, on sectionne l'extrémité méristématique afin de procéder au repiquage.

La pointe radiculaire au début de sa croissance sera maintenue verticale, grâce à son adhésion par capillarité à l'extrémité du tube effilé. Dès qu'elle aura pénétré dans l'ouate, on procédera comme il a été dit précédemment.

Le milieu minéral que nous utilisons est la solution d'Hoagland modifiée et complétée quant aux micro-éléments.

La solution organique renferme du glucose, des vitamines, des acides aminés et de l'hétéroauxine.

Nous publierons prochainement la composition exacte de ces solutions en même temps que les résultats obtenus en utilisant cette technique pour la culture du Radis et de la Betterave sucrière.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
Laboratoire de Physiologie végétale

Extrait du *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liége*
Séance du 19 février 1948. — N° 2.

# Nouvelle technique de déshydratation des tissus végétaux et animaux en vue de la préparation des coupes anatomiques.

par P.-J. MICHEL (*),
Ancien étudiant de l'Institut Botanique de l'Université de Liège,
Ingénieur-chimiste I. C. C.

A l'occasion d'une série de travaux de recherche sur la biologie de la Betterave sucrière, il fut nécessaire de mettre en évidence les modifications anatomiques éventuelles qui pourraient se manifester dans les plantes ayant subi divers traitements expérimentaux.

En pareil cas, les coupes sériées sont, jusqu'à présent, le meilleur moyen d'atteindre le but proposé.

Nous ne voulons pas rappeler ici les techniques ordinaires employées en vue de l'inclusion à la paraffine ou à la celloïdine.

Nous tenons seulement à insister sur le fait de la difficulté de déshydrater proprement les tissus.

L'exécution imparfaite de cette déshydratation entraîne fort souvent, comme on le sait, toute une série de mécomptes.

C'est particulièrement le cas pour les végétaux et les animaux fortement hydratés, qui peuvent posséder, en outre, des textures anatomiques hétérogènes.

Il est facile de concevoir qu'un saut trop brusque dans la progression de l'enlèvement de l'eau des tissus va faire apparaître des différences dans la vitesse de déshydratation des cellules diversement perméables.

(*) Présenté par MM. Bouillenne et Welsch.

Il en résultera des distorsions et des rétractions préjudiciables à la qualité des observations.

Il est nécessaire, afin de préciser la nécessité de la mise au point de notre technique, de montrer brièvement la diversité des tissus et les consistances très différentes de ceux-ci dans le cas d'une Betterave sucrière, premier matériel dont nous eûmes à nous occuper.

La majorité des tissus des racines de Betterave sucrière en voie de tubérisation est constituée par l'activité de zones cambiales surnuméraires au nombre de cinq à dix suivant les cas.

Chacune de ces zones cambiales fonctionne en multipliant, du côté externe comme du côté interne, le nombre de cellules, de sorte qu'elles amplifient le volume de la racine par la création d'anneaux concentriques de tissus progressivement épaissis.

Les cellules qui sont ainsi formées du côté interne se différencient en vaisseaux vasculaires peu nombreux disposés en lignes rayonnées et en tissus parenchymateux de xylème à grandes cellules turgescentes et à membranes minces.

Du côté externe se différencient des tissus vasculaires de Phloème dispersés parmi les cellules parenchymateuses de grande taille.

Dans l'étude générale entreprise, il fallait mesurer avec exactitude l'épaisseur de chacune des zones sous l'influence des conditions expérimentales étudiées.

Il fallait aussi établir le rapport entre l'épaisseur de chaque anneau et le nombre de cellules qui le constituaient.

*Dans ces conditions, il était indispensable d'être assuré que la déshydratation ne changerait pas le volume des cellules.*

Malheureusement, les tissus parenchymateux et le cambium de chaque anneau se sont montrés très fragiles à la technique habituelle de déshydratation en vue de la préparation des coupes. Nous avons constaté que les cellules se rétractent et que les mensurations en sont faussées.

Pour pallier à cet inconvénient, nous avons tout d'abord utilisé une série très longue de flacons à alcool (éthylique) de concentrations croissantes, proches l'une de l'autre, dans lesquels les blocs de tissus ont été déposés successivement.

Il en résultait une perte de temps très considérable, une manipulation compliquée, un durcissement exagéré par l'emploi de l'alcool éthylique absolu dans le cas de la Betterave; on observait, d'autre part, un écrasement du cambium.

Il paraissait donc utile d'imaginer une technique permettant une déshydratation plus rapide, des manipulations plus simples et aboutissant à une fixation sans modification du volume cellulaire primitif.

Cette technique met en œuvre un appareil que nous avons imaginé et qui est décrit ci-après :

### PRINCIPE DE L'APPAREIL.

La déshydratation lente et progressive est obtenue par le remplacement continu du liquide de la cuvette dans laquelle baignent les tissus à traiter au départ de la déshydratation.

Le liquide déshydratant est amené peu à peu dans la cuvette par la base de celle-ci. Un brassage se fait d'une manière telle que la diffusion de ce liquide déshydratant est déjà complète au niveau de la plaque perforée (H, photo II), support des blocs des tissus à traiter.

La diffusion est facilitée par la plus faible densité du liquide introduit par rapport à celle de la solution alcoolique précédente, dans laquelle se trouvent les tissus.

Le débit d'amenée des alcools étant réglé au moyen d'un robinet à deux voies, la déshydratation peut être menée à une vitesse appropriée avec la nature des tissus et leur éventuelle tendance à la déformation.

Ceci étant établi, nous pouvons donner maintenant une description des pièces de l'appareil.

### DESCRIPTION DE L'APPAREIL.

Constitué d'une cuvette et de deux réservoirs en verre placés en charge sur celle-ci, l'appareil possède un complexe métallique intérieur disposé centralement. Cette pièce mobile pouvant tourner sur un pivot placé au fond de la cuve, d'une part, réalise un brassage régulier des liquides servant à la déshydratation; d'autre part, elle sert de support aux pièces histologiques à traiter.

Nous allons décrire les différentes pièces constitutives de l'appareil, afin d'en indiquer les caractéristiques et les rapports.

1° *Cuvette.* — Tronc conique. Volume intérieur de 250 $cm^3$ environ.

Elle possède un couvercle métallique inoxydable (C, photo II) dans lequel sont aménagées deux ouvertures.

Elle communique avec l'extérieur par trois orifices.

L'obturation de deux d'entre eux est assurée par les robinets $R_1$ et $R_2$ ($R_2$ permet la vidange de l'appareil; pour $R_1$ voir plus loin).

Le troisième orifice conduit à un tube coudé vers le bas fonctionnant comme trop-plein, établissant la constance du volume du liquide.

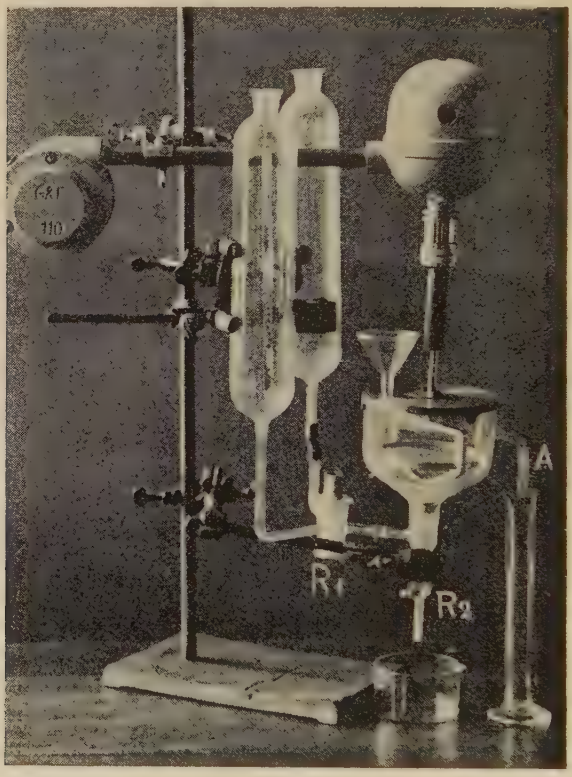



Photo I.

Les ouvertures du couvercle métallique servent respectivement, l'une à l'arrivée du liquide de remplissage initial par l'intermédiaire d'un entonnoir, l'autre au passage de l'axe du complexe métallique.

2° *Réservoirs.* — Au nombre de deux, cylindriques, de 250 $cm^3$ environ chacun.

Ils possèdent deux ouvertures; l'une, supérieure, soutient un tube plongeant (n'est pas représenté sur la photo I) assurant

un débit constant pour une ouverture de robinet $R_1$ donnée; l'autre, inférieure, conduit au robinet $R_1$ par l'intermédiaire d'un tube à parois épaisses.

3° *Robinet* $R_1$. — Ce robinet en verre est à deux voies. Il permet le passage des liquides provenant des réservoirs et les amène à la base de la cuvette. Les deux voies permettent d'amener dans celle-ci successivement les liquides des deux

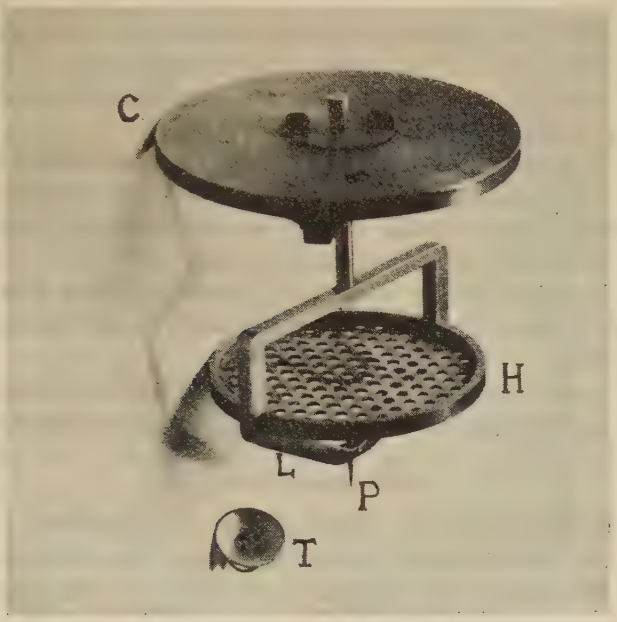



PHOTO II.

réservoirs. Une opération commencée avec l'un des liquides peut être terminée avec le second.

4° *Complexe métallique.* — Cette pièce chromée tourne sur un pivot inoxydable (T, photo II) autour d'un axe vertical passant par celui de la cuvette. Ce pivot est percé de 4 trous permettant l'arrivée des liquides déshydratants.

Cette pièce chromée est munie d'ailettes (L, photo II) assurant le mélange des liquides et d'une plaque circulaire (H, photo II) percée de trous servant de support aux objets à déshydrater.

La rotation est assurée par un petit moteur placé en prise directe sur l'axe matériel (voir photo I).

### LIQUIDES DÉSHYDRATANTS.

Nous avons utilisé normalement l'alcool éthylique à 94° pour le début de la déshydratation.

Nous nous sommes rallié à l'emploi de l'alcool butylique déjà préconisé par le Prof[r] P. Policard pour terminer la préparation de nos pièces histologiques. Moins cher que l'alcool éthylique absolu, moins hygroscopique et beaucoup moins durcissant, il permet le passage direct dans la paraffine fondue.

Nous avons cependant préféré son isomère, l'alcool isobutylique, parce que sa densité (d. à 20° : 0,806), égale à celle de l'alcool éthylique absolu, permet un plus facile remplacement de l'alcool éthylique à 94°, dans la cuvette.

Il a été possible de déshydrater par ce moyen des blocs de racines de Betteraves adultes d'une surface équivalente à celle des verres « porte-objets » ordinaires des travaux microscopiques et d'une épaisseur d'environ 5 mm.

Nous en avons obtenu facilement, après inclusion à la paraffine, des coupes de 4 à 5 μ sans observer ni durcissement, ni rétraction.

Nous avons expérimenté de la même manière la déshydratation de tissus animaux hétérogènes avec le même succès.

### MANIPULATIONS.

Les robinets $R_1$ et $R_2$ étant fermés, on introduit dans la cuvette le liquide ayant servi à conserver les tissus à traiter (alcool 60°, liquide de lavage, alcool 35°-40° dans le cas des tubercules de Betterave).

Les réservoirs étant remplis respectivement, l'un d'alcool éthylique à 94°, l'autre d'alcool isobutylique, les blocs de tissus sont fixés à la plaque métallique perforée par des procédés variés appropriés à la nature et au volume des objets à déshydrater.

Le complexe métallique est placé sur un pivot dans la cuvette de verre, le couvercle est ajusté correctement et enfin la connection est établie avec l'axe du moteur au repos.

Les manipulations servant à placer la pièce métallique ayant rejeté une certaine quantité de liquide par l'ajutage de trop-plein, on utilise l'entonnoir pour amener, éventuellement, le liquide de la cuvette au niveau normal. On donne alors au robinet $R_1$ une ouverture, déterminée après étalonnage de l'appareil; l'alcool éthylique 94° s'élevant dans la cuvette, on met

le moteur en marche et l'on augmente progressivement sa vitesse.

On stabilise celle-ci quand elle atteint 65 tours/minute environ; cette vitesse est nécessaire pour assurer une diffusion parfaite. Elle est suffisamment lente cependant pour éviter que la force centrifuge du liquide ne déprime trop fortement la région centrale de celui-ci et mette ainsi en contact avec l'air les objets à traiter.

Lorsque le liquide rejeté par l'ajutage du trop-plein marque 90° environ à l'alcoomètre, on arrête l'arrivée de l'alcool éthylique à 94° et l'on amène l'alcool isobutylique avec les mêmes précautions que celles prises plus haut pour l'alcool à 94°. Lorsque l'alcoomètre marque au liquide éjecté 99°, on arrête le moteur et l'on ferme $R_1$.

Les tissus ou organes sont alors détachés de l'appareil et sont placés dans un flacon rempli d'alcool isobutylique pur, afin qu'ils continuent à s'en imprégner parfaitement.

Cependant, dans la plupart des cas, pour les petits objets en particulier, on peut immédiatement passer aux trois bains de paraffine successifs.

La vitesse avec laquelle les liquides déshydratants : alcool éthylique 94° et alcool isobutylique, sont amenés dans la cuvette a une grande importance.

En effet, c'est par le débit d'arrivée de ces liquides que toute la gamme des concentrations peut être parcourue dans un temps suffisamment long pour que, à chaque concentration, l'effet déshydratant ait eu le temps de manifester son action dans la profondeur des tissus.

Nous ne reprendrons pas ici la suite des calculs qui nous ont permis de régler le débit : nous indiquerons uniquement un réglage facile, valable pour les dimensions de l'appareil ici représenté.

Le robinet $R_1$ étant muni d'un cadran avec repère indicateur, on s'arrange de telle manière que 20 $cm^3$ de liquide soient rejetés par l'ajutage du trop-plein en une heure.

La vidange des deux réservoirs se fait de cette manière en 24 heures environ.

Il est évident que la plus ou moins grande fragilité des tissus à déshydrater fera varier, dans une certaine limite, ces chiffres approximatifs (de 24 à 36 heures, par exemple, pour les cas courants).

L'appareil dont nous avons donné ci-dessus les caractéristiques nous a permis de mener à bien, dans un temps très court et sans opération fastidieuse, de nombreuses déshydratations simultanées en vue de l'inclusion de la paraffine sur des tissus particulièrement délicats.

*
* *

En terminant, qu'il nous soit permis de remercier chaleureusement M. le Prof[r] Bouillenne pour l'appui qu'il a bien voulu nous donner dans cette recherche, ainsi que MM. de Roubaix et Lazar, du Laboratoire de Photosynthèse de la Raffinerie Tirlemontoise.

Grâce à eux, les subsides nécessaires à la construction de notre appareil ont été obtenus. Il est en fonction depuis 1944.

Institut de Botanique de l'Université de Liège
(Laboratoire de Physiologie végétale).
Directeur : R. Bouillenne.

Novembre 1947.

---

Imprimerie M. HAYEZ, rue de Louvain, 112, Bruxelles.
Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4.

# A propos de l'évolution des sols dans les régions tropicales.

Extrait du *Bulletin de l'Institut Royal Colonial Belge.*
Tome XIX, fasc. 2, 1948.

**R. Bouillenne et P. Fourmarier. — A propos de l'évolution des sols dans les régions tropicales.**

La portion superficielle de l'écorce terrestre colonisée par la végétation est réduite à une mince pellicule d'une épaisseur variant de quelques centimètres à trois ou quatre mètres. Le sol ainsi défini constitue la portion basale de la biosphère, la portion aérienne étant l'étroite zone atmosphérique dans laquelle les êtres vivants se maintiennent. Les plantes y trouvent les conditions indispensables à leur vie; les feuilles vertes étalées à la lumière du soleil réalisent la photosynthèse des sucres; les biosynthèses végétales élaborent les corps organiques dont le règne zoologique et l'humanité dépendent exclusivement.

La composition et la structure de la pellicule qui couvre la surface des continents et dans laquelle les racines des plantes s'enfoncent sollicitent de plus en plus l'intérêt des chercheurs. Parce que le sol se dégrade et devient stérile, de très réelles appréhensions se font jour quant à l'avenir des installations humaines dont les habitants augmentent en nombre de quelque vingt millions par an.

La vitesse avec laquelle se produit cette dégradation est impressionnante; dans certains pays, elle s'accomplit dans l'espace d'une seule génération; elle apparaît comme un phénomène contemporain; elle présente des stades successifs marquant les étapes de la sénescence des sols; l'ultime étape paraît bien être, soit la formation des *sables désertiques*, soit la *latéritisation dans les régions intertropicales*. Dans ces deux cas, la stérilité est complète et entraîne la disparition de toute végétation, tant cultivée que naturelle.

L'étude des propriétés particulières des sols fait l'objet

des travaux de Pédologie. Au Congo, cette science a pris une place importante à la suite de la mission de notre confrère le chanoine J. Baeyens et de son remarquable exposé : « Les sols de l'Afrique centrale, spécialement au Congo belge » (1). Elle y a comme objectif principal la recherche des normes de fertilité en vue des exploitations agricoles, vivrières, ou industrielles.

On comprend que le rendement des cultures intéresse les pédologues au premier chef et que la détermination des facteurs édaphiques favorables constitue l'un des travaux parmi les plus urgents à accomplir dans la Colonie. Mais le fait que la fertilité des sols cultivés régresse de manière continue et profonde et que les groupements végétaux qui recolonisent les champs abandonnés ou qui font partie de la couverture végétale naturelle sont en voie d'appauvrissement, nous engage à envisager ici le problème de leur dégradation et en tout premier lieu celui de la latéritisation.

Nous n'avons pas l'intention ni la prétention de résoudre entièrement, dans cette note, une question aussi difficile et discutée que la latéritisation. Nous voudrions exposer simplement les points de vue concertés d'un géologue et d'un botaniste et nous osons espérer que ces considérations seront utiles aux études sur l'origine de la latérite, qui à l'heure actuelle préoccupe autant les économistes que les naturalistes et les agronomes.

### QUELLES SONT LES CAUSES DES PHÉNOMÈNES GÉNÉRAUX D'ALTÉRATION DES SOLS ?

Elles sont controversées, mais il est un point incontestable : c'est qu'à l'heure actuelle elles agissent sans qu'on puisse en rendre responsables des changements importants de climat.

---

(1) J. Baeyens, Les sols de l'Afrique centrale (*Public. de l'I.N.É.A.C.* Duculot, Gembloux, 1938).

En ce qui concerne la latérite, par exemple, certains auteurs, comme Erhart, Scaëtta, Robert, etc., considèrent qu'elle prend toujours naissance sous la forêt dense tropicale, c'est-à-dire que, selon eux, la première phase de la latéritisation se fait sous la forêt, dans un climat chaud et humide, et que, dans une deuxième phase, il y a disparition de la forêt et établissement d'une prairie sous un climat à saison sèche.

D'autres auteurs, surtout les naturalistes et les pédologues-agronomes, mettent l'accent sur les transformations dues au défrichement, résultant des méthodes de culture inadéquates et aboutissant à une dénudation qui désorganise les sols et l'économie hydrique sur de vastes territoires (E. De Wildeman, Aug. Chevalier, H. Humbert, A. Aubreville).

Un de nous a exposé cette manière de voir en 1943 (1). Egalement J. P. Harroy dans « Afrique, Terre qui meurt, 1944 ».

Pour les uns, la latéritisation est un phénomène d'*altération spontanée*, propre aux régions tropicales, affectant *une roche* du sous-sol et plus ou moins ralenti par la végétation.

Pour les autres, elle est le résultat de la décadence actuelle du règne végétal, fait constaté partout à la surface du globe et dont l'homme est responsable, qu'il s'agisse de l'altération des sols cultivés ou de la régression de la couverture végétale naturelle. Elle serait essentiellement un phénomène *superficiel*, se produisant dans le sol, provoqué par l'homme et résultant de la dégradation de la végétation de couverture.

Avant d'exposer notre point de vue, il nous paraît opportun de rappeler la configuration de la pellicule du sol, d'après les conceptions actuelles qui attribuent aux

---

(1) R. Bouillenne, Ne compromettons pas l'équilibre des forces naturelles (*Trav. du Centre d'Etude des Eaux*, Liège, II, 1943).

caractères physico-chimiques des colloïdes du sol le rôle principal dans la structure de celui-ci, dans sa stabilité et sa fertilité.

### CONFIGURATION DE LA PELLICULE DU SOL.

Nous considérerons ici uniquement la zone du sol se trouvant au-dessus de la nappe aquifère. Cette couche repose sur les terrains géologiques; elle est un ensemble d'éléments complexes. Dans une certaine mesure, elle varie selon les endroits. Mais, en gros, elle se présente avec une impressionnante constance partout où elle est recouverte par une végétation normale. Les racines rencontrent en Belgique, comme au Congo, un substratum de matières solides fait de cailloux, de sable, d'argile et d'humus. Ce substratum est pénétré par l'eau météorique et s'imprègne des éléments solubles qui sont libérés soit des roches cristallines, soit des roches sédimentaires et qui ne sont généralement entraînés que très lentement vers les cours d'eau. Cette relative stabilité de la composition des sols provient du fait que l'argile (les silicates) et l'humus se présentent sous une forme colloïdale déterminée.

Ces colloïdes sont susceptibles de s'imbiber fortement d'eau, ce qui a une très grande importance au point de vue de la fertilité. De plus, ils se combinent avec des sels minéraux qui peuvent, soit les neutraliser entièrement (sols neutres), soit incomplètement (sols acides). Il peut y avoir un excès de bases (sols alcalins) et de sels minéraux divers qui sont adsorbés.

Les colloïdes enrobent les particules solides, cailloux, grains de sable, fragments végétaux non encore dégradés (paille). Lorsqu'ils sont saturés d'eau, ils permettent l'existence d'eau libre qui peut se présenter sous forme de minces lames tapissant les particules ou bien qui remplit plus ou moins complètement les espaces libres de

la masse. Des techniques appropriées apprécient ces diverses données et expriment la capacité en eau, la disponibilité en eau, la teneur en eau du sol, l'humidité critique, etc. De l'air existe dans les lacunes, que l'on peut également mesurer.

En somme, les caractéristiques essentielles du sol vis-à-vis de la végétation viennent de ses propriétés colloïdales.

La nature et les concentrations relatives des substances chimiques adsorbées dans les colloïdes ou se dissolvant dans l'eau peuvent différer, non seulement d'après la situation géographique du terrain et la nature géologique du sous-sol, d'après les types de végétation de couverture, le climat actuel, etc., mais aussi d'après les événements antérieurs, climatologiques, géographiques, biologiques.

Il est inutile de rappeler l'influence des climats sur l'évolution des sols. Elle se marque de manière suffisamment nette pour qu'on en ait pu établir des catégories (classification climatologique).

Enfin, à l'état naturel, les animaux fouisseurs entretiennent l'aération du terrain; ils réalisent le brassage des éléments de la masse; ils ramènent vers la surface les matériaux des couches plus profondes et produisent ainsi le recouvrement des matières humiques superficielles.

D'innombrables microorganismes : Bactéries, Algues, Protozoaires, Champignons, procèdent à la minéralisation des matières organiques animales et végétales. Ils prennent une grande part dans le maintien automatique de la fertilité, grâce aux phénomènes de restitution chimique et colloïdale qu'ils réalisent. Bref, le sol ajoute à ses éléments colloïdaux la propriété d'être une sorte d'entité vivante : les microorganismes et les végétaux supérieurs sont le siège de nombreuses activités biologiques équilibrées. Ils sont une source très considérable de $CO_2$ qui se dégage du sol tant qu'ils sont en vie.

Nous pouvons résumer schématiquement la constitution de la pellicule arable comme suit : un squelette formé par un ensemble de particules solides, de tailles diverses, recouvertes d'une gangue de substances colloïdales, imbibées d'eau et plus ou moins saturées de sels solubles. Ces petites masses laissent entre elles des espaces plus ou moins grands dans lequels circulent l'eau, les matières dissoutes et l'air. D'ordinaire, une mince pellicule d'eau libre enveloppe chaque grain; elle a les propriétés des lames liquides minces; elle tient en solution les substances minérales du sol. (Voir fig. 1.)

Fig. 1.

Les constituants du sol : 1° sable et paille; 2° colloïdes; 3° eau et substances dissoutes; 4° air; 5° êtres vivants, peuvent se trouver en quantités variables. Les proportions de ces constituants déterminent dans une certaine mesure la stabilité et la fertilité du sol.

Considérés du point de vue pédologique, les sols ne

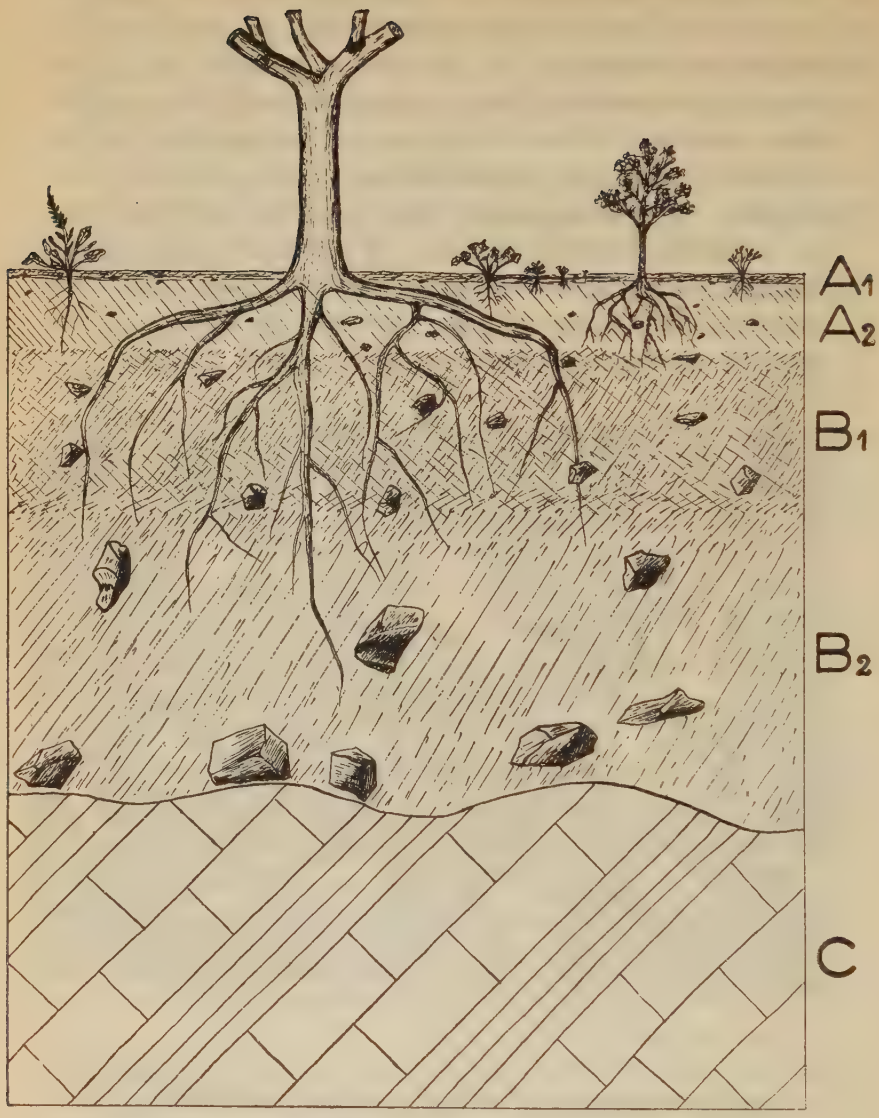



Fig. 2.

sont pas complètement l'expression du sous-sol géologique, même pour des sols autochtones (sol éluvial). A plus forte raison, ne le sont-ils pas quand ils ont été constitués d'éléments transportés par le courant des rivières (sol alluvial) ou par le ruissellement (sol colluvial). Dans tous les cas, le rôle de la couverture végétale est indiscutable tant du point de vue chimique que physique. Cette action est même prépondérante dans les deux assises de l'*horizon A* que l'on distingue généralement dans le profil :

$A^1$ : Assise en contact avec l'air, où vivent les parties aériennes des plantes, rhizomes, bourgeons et où s'accumulent les feuilles mortes, etc...

$A^2$ : Assise plus profonde, colonisée par les racines.

Tandis que l'horizon B, correspondant selon les cas à une zone plus ou moins profonde, forme une transition où les constituants minéralogiques deviennent de plus en plus dominants (B1 et B2).

L'horizon C, est le terrain géologique en place. (Voir fig 2.)

### LA PELLICULE DU SOL COMMENCE A SE TRANSFORMER PAR SUITE DE LA DISPARITION DE LA FORÊT (1).

Les sols constitués normalement sont couverts de forêts. Les phytogéographes considèrent que, sous presque tous les climats, le stade d'équilibre des associations végétales est le facies forestier. Comme les géographes, ils retrouvent, même dans des régions typiquement désertiques telles que le Sahara, les indications irréfutables qu'il y avait de larges et profondes vallées où coulaient des eaux abondantes. Ils y découvrent en maints endroits, sous d'épaisses couches de sable, les restes de forêts qui,

(1) Soit par des causes naturelles, soit par défrichement.

il n'y a pas cinq siècles, colonisaient de vastes espaces. (A. Chevalier, 1942.)

C'est surtout l'Agriculture qui est responsable de la diminution progressive des surfaces occupées par la forêt. Elle met à profit les humus forestiers fertiles. Mais, comme on sait, l'appauvrissement du sol est rapide et les champs sont abandonnées au bout de peu d'années, parce qu'ils deviennent improductifs. Jusqu'à présent, ce n'est que dans une petite partie du monde que l'on restitue, sous forme d'engrais, les éléments qui ont été enlevés avec les récoltes. Ailleurs, on procède à un nouveau défrichement qui conquiert sur la forêt les humus vierges indispensables.

En l'absence de pratiques de restitution aux terrains cultivés par voie d'engrais ou par voies naturelles, l'épuisement du sol se présente de plusieurs manières :

A. Dans les régions tempérées, il est relativement lent; il correspond principalement à la diminution des sels minéraux disponibles et des oligoéléments. Il n'est pas accompagné des phénomènes de désorganisation de la structure du terrain.

B. Dans les pays tropicaux, la situation n'est pas la même, non seulement à cause du climat, mais aussi parce que l'abandon de la culture s'accompagne de certaines pratiques désastreuses.

Si les territoires défrichés et temporairement cultivés étaient laissés à eux-mêmes, la forêt reprendrait pied, se reconstituerait au bout d'un certain temps et, par des phénomènes de restitution, le sol reprendrait peu à peu sa constitution de départ.

Les premiers stades de recolonisation sont des groupements herbacés. Ceux-ci, pouvant être utilisés comme pâture, déterminent chez l'indigène la volonté de les

maintenir tels. De sorte que les besoins de l'économie pastorale fixée rendent nécessaire d'empêcher la régénération de la forêt et tentent de maintenir ouverts les espaces à Graminées. C'est au feu que l'on fait appel. Il en résulte, lorsque l'action du feu est régulière, une ségrégation des espèces: disparition d'un grand nombre de Graminées utiles qui laissent la place à un petit nombre de plantes pyrophytes souvent impropres à la pâture.

La couverture végétale s'appauvrit donc; elle devient moins épaisse, moins serrée; des espaces vides apparaissent entre les touffes et, surtout s'il y a excès de pâturage, le sol est mis à nu sur de vastes surfaces. Cette évolution régressive est généralement hâtée par l'altération progressive du sol lui-même, altération de structure déclanchée dès les premières étapes de la dénudation.

Le défrichement de la forêt naturelle, suivi de pratiques agricoles dans lesquelles l'homme intervient successivement par la culture, la pâture et le feu, aboutit à une dénudation presque complète du sol.

### CONSÉQUENCES DE LA DÉNUDATION DU SOL.

La dénudation volontaire et provisoire par abatage de la forêt en vue d'une plantation est donc suivie d'une dénudation involontaire et profonde par suite de l'appauvrissement des groupements végétaux qui, s'étant installés sur les emplacements des cultures abandonnées après épuisement de certains de leurs facteurs de fertilité, résistent mal au feu et à la pâture.

Cette résistance est d'autant moins efficace que le sol subit parallèlement des transformations importantes dont la végétation est la première à souffrir et dont nous allons essayer de rendre compte.

Lorsque le sol est dénudé pendant une grande partie de l'année, il subit directement dans toute sa violence,

surtout sous les tropiques, l'action des facteurs climatiques. Cette situation menace d'ailleurs également les terrains excessivement cultivés.

Le dommage le plus évident est l'*érosion*. Nous ne nous attarderons pas à propos de ce phénomène qui a été décrit abondamment. Nous dirons seulement qu'il y a d'abord une forme d'érosion qui se produit par décapage des couches minces de la surface du sol, glissement d'eau chargée des éléments du terreau qui viennent s'accumuler dans les parties déprimées du modelé géographique. D'un côté, on constate une privation de matières d'autant plus forte que la végétation est plus rare; de l'autre, dans les parties colmatées, une accumulation de lits argileux minces et compacts dans lesquels les végétaux meurent par asphyxie. On peut en trouver des exemples partout sous les tropiques, aussi bien au Brésil que dans les Indes et au Congo. A. Aubreville en signale en Afrique occidentale française.

Il y a aussi l'érosion par ravinement, où l'on voit des chenaux se former et se creuser aussitôt après la destruction de la forêt; ils font subir au modelé du pays des changements rapides qui peuvent même provoquer un abaissement de la nappe aquifère si leur profondeur est suffisante. Nous connaissons tous des exemples plus ou moins dramatiques de cette érosion en rapport avec des crues torrentielles qui va jusqu'à ravager des régions entières.

Le point que nous allons traiter en détail, à cause de sa répercussion sur la composition même du sol, est le *lessivage*. Nous entendons par là l'action de l'eau en mouvement. Cette eau peut être celle en voie de ruissellement; elle peut être aussi celle qui pénètre dans la terre sous l'action de la pesanteur. Elle entraîne les sels minéraux solubles qui sont les uns dissous dans l'eau libre du terrain et les autres adsorbés dans les colloïdes. Ces

derniers disparaissent par diffusion assez lentement, mais un phénomène d'altération intéressant les colloïdes eux-mêmes vient hâter leur élimination.

### ALTÉRATION DES COLLOIDES DU SOL.

Les colloïdes du sol sont l'argile et l'humus.

L'argile, c'est-à-dire les silicates composés d'alumine, de fer, etc..., se présente comme un suspensoïde électronégatif; il peut exister sous forme d'hydrogel colloïdal ou d'hydrosol colloïdal.

L'humus (acides humiques complexes) est un émulsoïde organique complexe électronégatif; il peut aussi se présenter sous les deux phases d'hydrogel ou d'hydrosol; sa composition chimique n'est pas encore complètement élucidée. Il semble qu'il dérive de la lignine qui imprègne les membranes cellulosiques végétales dans le bois et les tissus lignifiés (1).

Dans un sol normal, pourvu d'électrolytes, les colloïdes argileux sont sous forme d'hydrogels plus ou moins stables.

Quand les électrolytes disparaissent par lessivage météorique, *les hydrogels deviennent des hydrosols*; ils perdent leur consistance et peuvent être entraînés par le ruissellement.

Les colloïdes d'acides humiques se présentent sous forme d'hydrogel par l'action d'ions polyvalents ($Ca^{++}$) et contribuent comme tels à la stabilité de la masse. Dans ce cas, on sait qu'ils interviennent pour faciliter la coagulation des colloïdes aluminiques et ferriques sous forme de gels. Quand ils sont privés de ces ions, ils passent à l'état d'hydrosols et sont enlevés facilement par les eaux.

---

(1) Les données actuelles sur la composition de l'humus, en général, le représentent comme un complexe à caractère ampholytique bien marqué, constitué de 40-50 % de lignine et de 30-35 % de protéines.

Qu'il s'agisse de suspensoïde comme l'argile ou d'émulsoïde comme l'humus, les micelles peuvent se trouver dans un état physique tel qu'elles s'imbibent d'eau et gonflent, augmentant plus ou moins considérablement de volume.

C'est en présence de sels minéraux en concentrations déterminées et à des pH appropriés qu'elles ont cette propriété. Elles constituent ainsi un hydrogel dans lequel chacune des micelles occupe un grand volume et manifeste une très forte attraction pour l'eau (1). Les micelles forment dans ce cas une phase continue et l'eau constitue la phase discontinue. La dessiccation de la masse ne peut se faire que très lentement et la récupération d'eau est intense, même contre des gradients de pression considérable.

D'un autre côté, en l'absence de sels minéraux dans le sol et à certains pH, les micelles ne présentent pas les phénomènes d'imbibition. L'eau est la phase continue tandis que les micelles séparées forment la phase dispersée.

A. — **Changement de phases.**

Le passage de l'état d'hydrogel fertile — stabilisateur de la réserve d'eau et de sels minéraux — vers l'état d'hydrosol se produit dans la nature. Ce phénomène est réversible. Tout facteur capable de modifier la viscosité, les propriétés d'imbibition, de plasticité, de cohésion des colloïdes peut opérer les changements d'état dans un sens ou dans l'autre.

Le lessivage et l'élimination des sels minéraux produisent le changement de phases des colloïdes dont les micelles se désagrègent. Elles sont entraînées vers les

(1) Le gonflement des micelles colloïdales est variable selon la nature des cations fixés. Les conditions d'humidité du sol en dépendent donc également (Sékara).

rivières ou bien aussi, dans certains cas, en profondeur. Le phénomène consiste en une élimination de colloïdes, une *décolloïdisation*.

B. — **Élimination des hydrosols.**

La « décolloïdisation », par passage de la phase hydrogel à la phase hydrosol, intéresse aussi bien les argiles que les humus. Les hydrosols d'acides siliciques, les hydrates de fer et d'alumine sont ainsi dispersés en particules extrêmement fines. Elles peuvent remplir les capillaires du sol, le rendant imperméable à l'air et à l'eau, si bien que l'on peut avoir un sol couvert d'eau pendant les saisons pluvieuses, mais où les racines des plantes ne peuvent trouver en profondeur assez d'eau pour une croissance maximum et où l'on aperçoit des manifestations d'asphyxie (Magistad, 1945) (1). Elles peuvent également être entraînées vers la profondeur au moment de fortes pluies et se rassembler à un certain niveau où elles forment un horizon compact. Cet horizon n'apparaît pas, dans les alluvions du Nord-Annam et du Tonkin, par exemple, où les cours d'eau traversent en amont un grand massif calcaire, car le sol y est régulièrement enrichi par des ions $Ca^{++}$ et $Mg^{++}$ qui empêchent le passage de l'hydrogel floculé à l'hydrosol dispersé (E.-M. Castagnol, 1942) (2).

Pour les acides humiques, la désorganisation du gel colloïdal se produit aussi par une déshydratation des micelles lorsqu'elle est poussée au delà d'un certain seuil. Ils sont par conséquent très sensibles à la sécheresse.

De plus, il faut se rappeler que dans les régions équatoriales à grande forêt, la réserve d'humus est généralement faible; car, sous le couvert de la forêt, la protec-

(1) *Botanical Review*, avril 1945, n° 4, vol. II.

(2) *Le Sol, étude théorique et pratique*, Hanoi, 1942.

tion contre l'ensoleillement et la conservation de l'humidité favorisent beaucoup l'activité microbienne du sol et la destruction complète des débris végétaux.

S'il y a ruissellement, l'élimination de toutes ces particules dispersées d'hydrosols se fait par entraînement sur les pentes dénudées. Elle laisse les couches superficielles du terrain sans argile et sans humus. On ne trouve plus que grains de sable et cailloux.

La faculté de garder l'eau et de se réimbiber est progressivement atténuée; le sol se dessèche aussitôt après la pluie, les particules solides ne sont plus agglomérées. Dans certains cas, elles deviennent, sans plus, indépendantes les unes des autres et sont soulevées en poussières par le vent, au moment des périodes sèches (Chine, Sahara, Middle West américain). Dans d'autres cas, par suite du mouvement d'ascension de l'eau profonde, chargées de certaines substances salines, elles peuvent être cimentées (concrétions de carbonates alcalino-terreux ou concrétions calcaires).

Nous sommes donc en présence de la formation soit de sables désertiques, soit de croûtes (Chernozen) des régions steppiques. Ces formations sont dès lors attribuables à un phénomène de décolloïdisation dû aux conditions qui déterminent un changement de phase des colloïdes et au fait que ceux-ci peuvent être éliminés facilement.

C. — **Substitution de colloïdes.**

Sous les tropiques, des phénomènes supplémentaires interviennent.

La pellicule du sol, appauvrie en sels et en colloïdes, est dénudée plus ou moins; elle subit directement l'action de la haute température et de l'insolation. De plus, la disparition de la végétation et de la microflore du sol, qui entretiennent normalement une atmosphère riche en $CO_2$, crée une alcalinisation progressive des couches superficielles et des couches profondes.

Cette alcalinisation est aussi favorisée par la température élevée qui diminue la solubilité du $CO_2$.

Il en résulte que pendant la saison des pluies l'eau alcaline pénètre dans les couches profondes et attaque les roches qui, ainsi que M. Robert l'a très bien décrit dans *Congo physique*, 1942, subissent des processus d'altération hydrolytiques dans lesquels la silice se sépare des hydrates d'Alumine et de Fer. C'est le déplacement du Fer et de l'Alumine qui conditionne ici la différenciation des horizons du profil.

On constate, en outre, une augmentation des carbonates aux dépens des bicarbonates solubles (Fourmarier, 1944).

A présent, nous devons nous demander ce qui se passe au niveau de la roche mère (horizon C) qui est en voie d'altération, sous la pellicule de sol « décolloïdisé » ne contenant presque plus, ou plus d'alumino-silicates hydratés et de sesquioxydes de Fer. Cette altération ne se produisait pas lorsque le sol superficiel comportait ses colloïdes divers, était couvert de végétaux et avait une réaction acide.

Comme maintenant on se trouve en milieu alcalin, la silice nouvellement libérée et se trouvant dispersée en *hydrosol*, s'élimine rapidement vers la profondeur ou autrement, au cours de la saison des pluies. Il n'entre pas dans nos intentions de préciser ici où les micelles dispersées sont entraînées. D'autre part, pendant la saison sèche, une évaporation intense dessèche la pellicule superficielle et provoque la montée de l'eau profonde. Celle-ci est chargée des hydrates ferrique et aluminique dont nous venons de parler; elle les amène vers le haut avec elle. Ces corps sont abandonnés à la surface. Ils se déposent souvent en des endroits distincts par suite de leur vitesse différente de déplacement.

Nous voudrions attirer spécialement l'attention sur le

fait que ces corps se présentent sous forme colloïdale : *hydrogel* alcalin, avec toutes les propriétés des colloïdes et comme tels fortement imbibables; ils remplacent les silicates et les humus disparus, dans le rôle de rétention de l'eau et des sels nécessaires à l'entretien d'une vie végétale.

A ce stade, le sol n'est pas stérilisé; il peut encore, et pour autant qu'il possède un minimum des éléments minéraux indispensables au maintien des hydrogels et que la dénudation ne soit pas continuée, porter une végétation naturelle stable et même certaines cultures. Il est de coloration rouge due à la prédominance de fer, à l'état de sesquioxyde. Plus la saison sèche sera longue et aride, plus l'action de remontée des éléments par capillarité aura d'importance et plus cet horizon sera voisin de la surface. Il atteint la surface dans beaucoup de terres rouges tropicales au Congo belge, au Brésil et à Java; elles existent en Indochine française, etc... On assimile généralement ces hydrogels colloïdaux à des latérites. A. Chevalier les appelle des latérites jeunes. Chez elles, il y a eu substitution de colloïdes et, dans une mesure variable, pauvreté de la teneur en sels minéraux solubles. Mais les colloïdes rouges qu'elles comportent ne présentent aucune des caractéristiques structurales de la latérite scoriacée ou concrétionnée. Elles sont la phase préparatoire à ce concrétionnement. On pourrait dire qu'elles sont *latéritigènes*. Elles sont menacées très directement de latéritisation si elles subissent une dénudation systématique sous le climat tropical comportant une saison sèche nettement marquée.

D. — **Latéritisation.**

Les colloïdes aluminiques et ferriques, amenés en surface par le jeu de l'évaporation, continuent à y parvenir de la profondeur où ils se forment par altération hydro-

lique de la roche en place (1). La silice étant éliminée régulièrement, le rapport $\frac{Si\ O^2}{R^2O^3}$ est toujours < 2 (2).

Les hydrates subissent des phénomènes d'altération dans leur structure, dès que la couverture végétale devient insuffisante.

Le lessivage progressif des sels minéraux en surface pourrait les faire passer de la phase hydrogel à la phase hydrosol et les entraîner avec le ruissellement, mais les conditions rencontrées superficiellement à ce stade d'évolution du terrain dénudé provoquent la *précipitation* et la *déshydratation* de ces colloïdes. Les causes semblent être la forte alcalinité, la chaleur, la sécheresse, etc... Il en résulte la formation d'une cuirasse latéritique (latérite scoriacée).

L'état colloïdal est irrévocablement détruit par cette déshydratation. Le précipité ou floculat n'a plus aucune des propriétés des gels : imbibition, plasticité, élasticité, adsorption, etc. Il cimente irréversiblement les particules solides du terrain en une croûte qui, lorsqu'elle s'étend sur de vastes espaces, a l'aspect typique de la carapace latéritique des *Bove*, décrits par Aubreville en A.O.F., ou encore des *Pembélés* de l'Uele. La végétation y est classiquement très réduite.

Ces concrétions constituent le stade final d'un phénomène qui a commencé par l'élimination progressive des colloïdes siliceux et par la précipitation des hydrates colloïdaux de fer et d'aluminium.

---

(1) Évidemment, pour autant que la roche-mère en contienne les éléments et aussi que la couche de terre en contact avec celle-ci permette une constante remontée d'eau par capillarité.

(2) Il conviendrait pourtant d'être fixé sur l'établissement de ce rapport. Celui-ci, en effet, peut être calculé, soit moléculairement, soit pondéralement, et il n'est pas indifférent que ce rapport soit exprimé de l'une ou de l'autre manière, car le quotient en acquiert une signification différente quant à l'état de dégradation d'un sol et d'élimination de la silice.

Il ne peut plus être ici question de coagulation de ces colloïdes sous forme de gel; il s'agit indiscutablement de la destruction définitive de toute propriété colloïdale.

En Belgique, nous connaissons un exemple semblable: la tourbe, qui, sous forme d'hydrogel dans la tourbière, absorbe 600 fois son poids d'eau, devient dure, friable et perd son pouvoir de réimbibition quand elle subit l'insolation directe et une dessiccation poussée au delà d'un certain point de déshydratation.

### DISCUSSION.

Cet exposé nous amène à formuler l'hypothèse suivante :

La latéritisation est un phénomène superficiel de sol dénudé sous les tropiques. Elle est due à un processus d'altération interne du profil. Elle intéresse, en plusieurs phases, les colloïdes du sol et aboutit à la perte de toutes leurs propriétés colloïdales.

Le corollaire de ce point de vue est que la latéritisation est impossible sous la forêt, car celle-ci entretient une atmosphère riche en $CO_2$; elle renouvelle continuellement les humus; elle ne permet pas l'échauffement considérable du terrain qui favoriserait la destruction des colloïdes aluminique et ferrique par précipitation [1]; elle atténue les effets de la dessiccation due à la saison sèche et par sa présence réagit sur le climat local. Enfin, elle arrête le ruissellement et le lessivage.

Bref, elle ne réalise aucune des conditions physico-chimiques qui détruisent les propriétés colloïdales réversibles d'un sol, qui permettent l'élimination de la silice et qui provoquent irréversiblement le concrétionnement des hydrates aluminique et ferrique.

---

[1] La température du sol sous forêt est d'une constance remarquable. Les écarts à Bambesa, par exemple, en pleine saison sèche ne dépassent pas 4° C pour une moyenne voisine de 23° C (J. MOUREAU).

Comme le dit très bien A. Chevalier, le sol rouge perméable des terres équatoriales peut porter la forêt pendant des millions d'années; elle n'emprunte que peu de chose au sol et vit pour ainsi dire sur elle-même (1).

Chevalier appelle ces terres rouges « latérites jeunes ou adultes », réservant l'utilisation des termes « latérite scoriacée » à l'état statique d'un concrétionnement bien défini, conforme à l'étymologie du mot *later*.

Ces terres rouges, fertiles, perméables, imbibées d'eau, comportent des colloïdes et ne peuvent être comparées à la cuirasse latéritique formée par suite de la dénudation du sol.

Nous sommes d'accord avec la plupart des auteurs qui précisent, comme Scaëtta l'a fait (2), « qu'une *roche* quelconque étant le point de départ, on aboutit rapidement en des temps historiques, et invariablement, à une seule et unique néo-roche : *la latérite sensu stricto* (*scoriacée*) ». Mais, nous ne pensons pas qu'une roche puisse être comparée à un sol forestier. Le sol forestier a acquis progressivement pendant de longues périodes les complexes d'origine biologique qui en font l'entité que nous avons décrite. Ainsi constitué, il reste équilibré avec sa végétation. Aussitôt que celle-ci disparaît, il perd ses complexes protecteurs et ce n'est qu'à ce moment qu'il se présente devant les phénomènes d'altération tropicale comme une roche, et permet de plus l'attaque du sous-sol géologique profond.

Dans tous les cas, nous estimons que le phénomène de formation de carapace latéritique ne se produit pas tant qu'il y a couverture forestière stable.

Cependant, il existe au Congo, sous la forêt primaire, des dalles rocheuses dont la texture est identique à celle

---

(1) *Revue générale de Botanique appliquée et d'Agriculture tropicale*, 1948, p. 62, Paris.

(2) Scaëtta, voir Chevalier, *loc. cit.*, p. 61.

des cuirasses latéritiques des savanes et des brousses récentes.

Dans l'Uele, surtout dans les savanes du Nord, on trouve souvent plusieurs dalles latéritiques superposées, séparées les unes des autres par une roche friable d'origine sédimentaire, une sorte de limon plus ou moins riche en argile (collines tabulaires de Tukpwo — Communication de J. Moureau).

Ces cuirasses ont des épaisseurs variables, mais sont identiques quant à leur texture.

Aubreville vient de décrire longuement, en Guinée française (*Agronomie tropicale*, 1947), des carapaces ferrugineuses de même type, qui existent sous la forêt. A certains endroits, elles apparaissent en surface dans un vide plus ou moins étendu de la couverture forestière, soit en terrains plats, soit en terrains légèrement inclinés. Elles sont couvertes de maigres savanes; on les appelle *Bové*. Selon cet auteur, la *bovalisation* consiste en un phénomène d'érosion mettant à nu les carapaces existant plus ou moins profondément sous la surface.

Bovalisation ne signifie donc pas formation de latérite, mais mise à jour de latérite préexistante. L'auteur conclut qu'il s'agit de cuirasses fossiles.

Il pourrait en être de même au Congo.

Le fait que dans le Nord de l'Uele au moins on trouve des cuirasses superposées sous les savanes vient confirmer l'idée qu'il s'est produit, à plusieurs reprises, dans les âges préhistoriques des conditions favorables à la latéritisation et permet d'expliquer la présence de roches latéritiques fossiles sous le sol de la forêt primitive.

Au cours des périodes géologiques récentes, le climat des régions intertropicales a subi des variations parallèlles à celles caractérisées dans les régions tempérées par l'alternance de phases glaciaires et de phases interglaciaires. Il en est résulté très probablement des alter-

nances de végétations forestières et de savanes. Des conditions ont ainsi été réalisées qui furent tantôt défavorables, tantôt favorables à la latéritisation.

Dans cette hypothèse, il faut admettre qu'après une période où la cuirasse latéritique a pu se former et a stérilisé le sol, il s'est produit des conditions permettant une reconstitution de sol arable.

En conclusion, sous le climat actuel des régions tropicales, la destruction de la forêt est le facteur principal qui amorce les transformations aboutissant à la désintégration des complexes colloïdaux du sol. Celui-ci peut ainsi devenir, selon les cas, poussière ou latérite. De plus, le défrichement lui aussi provoque, par l'agrandissement démesuré des surfaces dégradées, une aridité du climat telle que les sols restés encore fertiles souffrent d'une insuffisance de précipitations atmosphériques.

Notre tâche actuellement, spécialement dans les régions tropicales, devrait consister dans la protection du sol contre une stérilisation rapide et totale, bien plus que dans son utilisation complète à des fins agricoles ou industrielles.

22 mai 1948.

# Quelques observations microbiologiques des tourbières acides du Trou Brouly.

(Hauts-Plateaux de la Baraque Michel).

EXTRAIT DU *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liége.*
Séance du 19 février 1948. — N° 2.

# Quelques observations microbiologiques des tourbières acides du Trou Brouly,

(Hauts-Plateaux de la Baraque Michel),

par J. RAMAUT (*),
Assistant au Laboratoire de Physiologie végétale
de l'Université de Liège.

Des expériences, entreprises dans les Laboratoires de Botanique et de Bactériologie de l'Université de Liège, ont été poursuivies sur le rôle de l'acidité naturelle des tourbières dans ses rapports avec la flore bactérienne autochtone.

Ce genre d'expériences, dans la littérature, ne fait pas l'objet de multiples recherches. Nous avons posé la question suivante : L'acidité est-elle le facteur limitant la population bactérienne de ces habitats (densité de cette population, diversité des genres et espèces); est-elle également responsable de la faible activité desmolytique des germes présents (désagrégation peu importante des complexes biochimiques du substrat) ?

(*) Présenté par MM. R. Bouillenne et E. Welsch.

Des expériences faites en divers pH montrent que des bactéries banales des sols cultivés, telles *Sarcina lutea*, sont capables de proliférer dans le bouillon de culture ajusté au pH de la tourbière (4,5). L'inoculation, avec ces mêmes bactéries, d'un échantillon de tourbe, prélevé aseptiquement, frais et non altéré, quant à sa valeur de pH, est suivie d'une mort rapide des germes ensemencés. Les expériences sont conduites à la température de 20° C (tableau I).

TABLEAU I.

**Survie de *Sarcina lutea* en fonction de l'acidité et du temps.**

A. — Dans le bouillon ajusté à différents pH.

Nombre de colonies après :

| pH | 0 jour | 6 jours | 9 jours |
|---|---|---|---|
| 4 | $100 \times 10^7$ | $270 \times 10^7$ | $54 \times 10^7$ |
| 5 | $100 \times 10^7$ | $300 \times 10^7$ | $17 \times 10^7$ |
| 8 | $100 \times 10^7$ | $150 \times 10^7$ | $160 \times 10^7$ |

B. — Dans la tourbe ajustée à différents pH.

Nombre de colonies après :

| pH | 0 jour | 4 jours | 9 jours |
|---|---|---|---|
| 4 | $50 \times 10^7$ | $1 \times 10^5$ | $1 \times 10^8$ |
| 5 | $50 \times 10^7$ | $1 \times 10^5$ | $4 \times 10^4$ |
| 8 | $50 \times 10^7$ | $1 \times 10^5$ | $2.050 \times 10^4$ |

Mais des bactéries pathogènes, comme *Staphylococcus aureus*, ne prolifèrent plus au-dessous d'un pH 5-5,5 en bouillon de culture; dans la tourbe, la mort est rapide à tous les pH (tableau II).

Ces deux essais préliminaires démontrent que ces microorganismes sont sensibles à l'acidité, mais à des degrés divers.

De plus, ils mettent en évidence un fait curieux : *Sarcina lutea*, non signalée comme bactérie commune dans la flore des tourbières acides, — nous-même ne l'avons pas rencontrée au Trou Brouly, — se multiplie au pH 4 en bouillon de culture, mais meurt à ce même pH dans la tourbe.

Il est, dès lors, permis de supposer que l'acidité n'est pas le seul facteur limitant la présence d'un tel organisme.

Nous avons poursuivi nos observations et examiné s'il n'existait pas un facteur bactérien susceptible d'engendrer la pauvreté bactérienne et la limitation de l'activité des germes présents. Mais comme les conditions écologiques très particulières du milieu tourbeux sont capables par elles-mêmes de restreindre la vie microbienne, il était nécessaire de faire la part entre le facteur bactérien proprement dit et ces conditions : aération du milieu défectueuse, humidité élevée et constante (85 à 90 %); oligotrophisme des eaux de la tourbière.

TABLEAU II.

**Survie de *Staphylococcus aureus* en fonction de l'acidité et du temps.**

A. — Dans le bouillon ajusté à différents pH.

Nombre de colonies après :

| pH | 0 jour | 2 jours | 7 jours | 9 jours |
|---|---|---|---|---|
| 4 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $2{,}3\times10^8$ | $1\times10^5$ |
| 5 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | — | $1\times10^5$ |
| 6 | $474\times10^5$ | $310\times10^7$ | $245\times10^8$ | $23\times10^7$ |
| 7,6 | $474\times10^5$ | $475\times10^7$ | $160\times10^8$ | $56\times10^7$ |
| 8 | $474\times10^5$ | $275\times10^7$ | $203\times10^8$ | $102\times10^7$ |

B. — Dans la tourbe ajustée à différents pH.

Nombre de colonies après :

| pH | 0 jour | 2 jours | 7 jours | 9 jours |
|---|---|---|---|---|
| 4 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $1\times10^3$ | $1\times10^3$ |
| 4,5 (*) | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $62\times10^3$ | $1\times10^3$ |
| 5 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $1\times10^3$ | $1\times10^3$ |
| 6 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $1\times10^3$ | $1\times10^3$ |
| 7 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $1\times10^3$ | $1\times10^3$ |
| 8 | $474\times10^5$ | $1\times10^5$ | $1\times10^3$ | $1\times10^3$ |

(*) 4,5 représente le pH naturel de la tourbe utilisée.

Dans la présente note, nous rendrons compte de quelques observations sur la présence éventuelle, parmi les bactéries peuplant les tourbes acides, de microorganismes doués d'activité bactériostatique ou bactériolytique.

Chaque niveau examiné dans la tourbe, depuis la surface jusqu'à 60 cm de profondeur, nous a révélé la présence de bactéries lytiques vis-à-vis du *S. aureus*; nous avons également

trouvé des germes bactériostatiques vis-à-vis du *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Escherichia coli*.

Cependant cette présence d'organismes lytiques et bactériostatiques ne peut guère être prise en considération pour expliquer l'inactivité physiologique des autres germes présents ni l'absence de certains genres ou espèces; car ces pouvoirs antibiotiques ont été observés au cours d'expériences faites dans des milieux artificiels. Il est bien connu, en effet, que les substances antibiotiques sécrétées par de nombreux germes peuvent n'être produites qu'en milieu artificiel. De plus, certaines sont

TABLEAU III.

**Mise en évidence du pouvoir bactéricide.**

On place les tubes à 37° C pendant 24 heures, puis on effectue une

N° 1 : 10 cc de suspension de *Sarcina lutea*.

N° 2 : 9 cc de suspension plus 1 cc d'acétone pur dilué au 1/5.

N° 3 : 9 cc de suspension plus 1 cc d'extrait acétonique dilué au 1/5.

On place les tubes à 37° C pendant 24 heures puis on effectue une numération microbienne dans les trois suspensions.

RÉSULTATS.

| | |
|---|---|
| Au départ ... ... ... | $4{,}2 \times 10^7$ |
| Tube n° 1 ... ... ... | $8{,}9 \times 10^6$ |
| Tube n° 2 ... ... ... | $2{,}1 \times 10^6$ |
| Tube n° 3 ... ... ... | $3{,}1 \times 10^4$ |

rapidement inactivées lorsqu'on les introduit dans des milieux naturels. En 1942, Waksman et Woodruff (1) ont isolé du complexe éthérosoluble de la fraction $\alpha$ de l'humus, une substance capable d'atténuer fortement l'activité de l'actinomycine (*Streptomyces antibioticus*).

Ces faits expliquent qu'on ait rarement extrait des substances antibiotiques des milieux naturels où vivent cependant des organismes antagonistes.

En ce qui concerne la tourbe du Trou Brouly, nous avons isolé la fraction du matériel extractible par l'éther sulfurique et soluble dans l'acétone. Elle possédait une activité bactéricide. Ce fait n'est pas pour nous surprendre car de nombreux milieux complexes artificiels ou naturels sont capables de fournir, par extraction sélective, des corps doués de propriétés bactéricides, tels que des acides gras non saturés (tableau III) (voir divers travaux de Spoehr sur les Algues, Carnegie Institution).

Ainsi, M. Welsch (2) a isolé des lipoïdes bactéricides de diverses cultures bactériennes et aussi, en moindre quantité, de nombreux milieux bactériologiques stériles. Ces corps, dans le milieu naturel, sont associés à des substances qui neutralisent leurs propriétés antibiotiques.

Après extraction, ces corps manifestent leur propriété bactéricide dans des conditions expérimentales bien définies : il faut utiliser des suspensions bactériennes « réactif » en milieu minéral et non en milieu organique.

**RÉSUMÉ.**

Après avoir consulté la littérature sur l'existence d'essais ou de travaux touchant la question de l'acidité dans ses rapports avec la population bactérienne des tourbières acides, nous avons l'impression que nos essais sont les premiers réalisés dans ce sens.

Nous avons expérimenté dans quelles mesures l'acidité ou l'action de certaines substances microbicides pouvait expliquer la pauvreté microbienne de ce milieu extrêmement particulier et nous avons conclu que :

1. Si l'acidité n'est pas le facteur exclusif qui limite l'activité biologique des microorganismes, il n'en reste pas moins vrai qu'elle entraîne une spécialisation très poussée de la flore des tourbières acides.

2. Que l'existence d'antagonismes bactériens, cependant communs à tous les sols, peut expliquer dans une certaine mesure l'inactivité de certains germes dans la tourbe, mais ne peut, à elle seule, rendre compte des constatations faites à propos de la biologie des bactéries de la tourbe.

Laboratoire de Physiologie végétale
et Laboratoire de Bactériologie de
l'Université de Liège.

**BIBLIOGRAPHIE.**

1. Selman A. Waksman and H. Boyd Woodruff, The occurence of Bacteriostatic an Bactericidal substances in the soil (reprinted from *Soil Sciences*, New Jersey Agricultural experiment station, Vol. 53, Nr 3, March 1942).

2. M. Welsch, Bactericidal substances from sterile culture media and Bacterial culture (reprinted from *Journal of Bacteriology*, Vol. 42, Nr 6, December 1941).

Imprimerie M. HAYEZ, rue de Louvain, 112, Bruxelles.
Domicile légal : rue de la Chancellerie, 4.

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1949, pp. 43 - 56.

# ÉTUDE BIOCHIMIQUE DES TOURBIÈRES ACIDES de la BARAQUE-MICHEL

## I. INTRODUCTION ET TECHNIQUES CHIMIQUES

par

**Jean L. RAMAUT,** Lic. Sc.

Si la phytosociologie et l'écologie des tourbières ont été activement poussées, leur biochimie et leur microbiologie ont été jusqu'ici fort négligées.

Il n'entre pas dans nos intentions de présenter ici l'étude biochimique complète des tourbières mais d'en faire, tout d'abord, ressortir les caractères chimiques. Cette étude fait partie d'un ensemble de travaux entrepris dans les tourbières acides de la Baraque-Michel depuis quelques années. Notre champ expérimental s'est localisé dans le « Trou-Brouly », région de tourbières située sur la droite de la route « Jalhay-Botrange » au niveau de la Baraque-Michel elle-même.

On constate, en certains points de ces tourbières, de nombreuses modifications du tapis végétal et parfois des signes d'altérations de la texture physico-chimique de la tourbe, elle-même. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette question à l'occasion de notre prochain travail.

Ces modifications superficielles nous ont amené à rechercher les répercussions qu'elles pouvaient entraîner sur les caractères chimiques de la tourbe. Connaissant la composition chimique de tourbes acides étrangères, nous avons comparé leurs caractéristiques à celles des tourbes analysées par nous au « Trou-Brouly ».

Cependant, cette étude nécessitant une mise au point de divers procédés d'extraction et de dosages, dans cette première note, nous nous limiterons à l'étude des techniques chimiques adéquates à notre travail ultérieur.

Parmi les constituants d'un matériel aussi complexe que la tourbe, nous avons considéré de grandes catégories de substances telles les lipides, les glucides et les protéines. Tout comme WAKSMAN et son école (1) l'avaient d'ailleurs

proposé dans différents travaux, nous n'avons pas disséqué les fractions solubles dans l'éther sulfurique et l'alcool éthylique en leurs constituants respectifs, mais nous avons apporté une attention toute particulière aux composés glucidiques du groupe des hémicelluloses, celluloses et lignines.

L'examen des matières azotées a été effectué par la méthode de KJELDAHL. Des méthodes physiques nous ont fourni des indications précises sur le pH et la teneur en eau des échantillons.

En terminant cette note, il nous a paru intéressant de mentionner quelques considérations sur l'importance et le rôle des hémicelluloses et lignines dans les sols tourbeux.

Le travail se présente comme suit :

A. Aperçu historique de la chimie des tourbes.
B. Méthode d'extraction et de dosages.
   1. Extraction et dosage des constituants glucidiques.
   2. Extraction et dosage des substances solubles dans l'éther sulfufique ou l'alcool éthylique.
   3. Détermination physique du pH.
C. Considération sur les hémicelluloses et lignines dans les tourbes acides.

## A. APERÇU HISTORIQUE DE L'ÉTUDE DE LA CHIMIE DES TOURBES

Les premiers travaux touchant la composition chimique des tourbes datent de 1837 et 1864 époque où WEIGMANN (**2**) et WEBSKY (**3**) analysèrent les cendres de tourbe.

VON FEILITZEN et TOLLENS (**4**), en 1898, s'attaquent aux divers constituants de la tourbe et, en particulier, à la cellulose et aux pentosanes. On constate la disparition totale de la cellulose dans certains types de tourbe, son taux élevé dans d'autres, une évolution parallèle mais opposée des substances carbohydratées et azotées dans les tourbes dites « basiques ».

ZAILER et WILK (**5**), en 1907, relèvent quatre complexes chimiques dans la tourbe :

1° Les constituants du matériel végétal original ;
2° Les produits de transformation ;
3° Les substances minérales ;
4° L'eau.

C'est à WAKSMAN (**1**) et ses collaborateurs que revient le mérite d'avoir étudié d'une façon suivie la chimie des tourbes. L'analyse leur a permis de suivre l'évolution des constituants végétaux au cours des temps. Ils ont ainsi constaté les dégradations profondes que subit le matériel végétal lors de son

enfouissement, sa vitesse lente de transformation lorsqu'il est engagé dans le complexe « tourbe ».

Leurs travaux ont permis d'établir entre autres une classification des tourbes basées sur leurs caractéristiques chimiques que nous aurons l'occasion de discuter en fin de ce travail. Cette dernière constitue une aide précieuse et peut, dans de nombreux cas, compléter les analyses phytosociologiques de surface.

## B. MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DOSAGE

### I. Extraction et dosage des constituants glucidiques.

Les glucides qui nous ont préoccupés sont avant tout les hémicelluloses et les celluloses. Nous avons également examiné le cas des sucres réducteurs et totaux (monoses et polyholosides simples).

Les lignines, non apparentées aux polyholosides, ont été traitées dans ce chapitre pour des raisons de facilité.

L'extraction et le dosage des hémicelluloses, celluloses et lignines ont fait l'objet de nombreux travaux. Ce sont surtout les problèmes concernant le bois et ses applications qui ont été spécialement étudiés. Le matériel tourbeux se révèle, cependant, plus complexe que le bois. Si l'analyse du bois dispose de nombreuses méthodes, il n'en est pas de même pour la tourbe qui a donné, à notre connaissance, un seul travail important : celui de Waksman (1). La méthode de Waksman, relativement ancienne, ne tient évidemment pas compte de récents progrès réalisés dans l'analyse du bois et la question se pose, aujourd'hui, de savoir si ces nouvelles méthodes sont applicables à la tourbe.

Nous avons pris soin d'essayer sur notre matériel tourbeux quelques-unes des méthodes récentes utilisées dans l'analyse des matériaux ligneux.

#### 1° - Les Hémicelluloses.

L'extraction des hémicelluloses est beaucoup plus difficile à réaliser que celle de la cellulose et de la lignine parce que la nature chimique de ces substances est toujours imprécise tant par leur structure que par leur constitution.

Il y a, cependant, une quinzaine d'année, les laboratoires de Madison (6) ont scindé le groupe des hémicelluloses en deux fractions distinctes. Cette scission est venue en résultante des travaux de Cross et Bevan sur la détermination de la cellulose dans le bois :

1° La fraction comprenant les substances incrustantes non associées à la cellulose et contenant toujours un acide uronique ;

2° La fraction étroitement associée à la cellulose et ne renfermant jamais un acide uronique.

Candlin et Schryver (**7, 8**) ont proposé, à cette époque, de réserver à la première fraction le nom de polyuronides, à la seconde celui de cellulosane.

Ces mêmes laboratoires ont également entrepris l'étude de la constitution chimique des hémicelluloses et considéré cette dernière comme voisine de celle de la cellulose. Schulze, d'autre part, fait des hémicelluloses, une étape dans l'élaboration de la cellulose.

TABLEAU I

**Hémicelluloses**

Solubles dans les alcalis dilués
Hydrolysables par les acides dilués pour donner des sucres et souvent des acides uroniques.

| Trouvées dans la fraction cellulosique de Cross et Bevan. | | Non trouvées dans la fraction cellulosique de Cross et Bevan. | |
|---|---|---|---|
| Ne contenant pas d'acide uronique. | | Ne contenant pas d'acide uronique. | Contenant un acide uronique. |
| Cellulosanes<br>Subst. de structure. | | Hexosanes-Pentosanes<br>Hexopentosanes. | Polyuronides<br>Subst. incrustantes. |
| Xylanes<br>Mannances<br>Glucosanes. | | Mannanes<br>Galactanes<br>Arabanes. | Pentose + ac. uronique.<br>Pentose + hexose<br>+ acide uronique. |

Actuellement, le problème de la constitution chimique n'est pas encore résolu mais les caractéristiques générales de ce groupe de substances sont bien établies. Ce sont des complexes facilement hydrolysables par les acides minéraux dilués et très solubles dans les alcalis dilués à froid (NaOH à 4 %).

Cette solubilité dans les alcalis a d'ailleurs fait l'objet d'une méthode d'extraction. Les substances ainsi obtenues ont été classées comme hexosanes ou pentosanes ou mieux encore comme hexopentosanes constitués à la fois d'anhydropentoses et d'anhydrohexoses.

Actuellement, il est établi que les substances, ainsi préparées, ne sont pas des polyholosides au sens strict du terme, mais une association d'holosides et d'un ou plusieurs acides uroniques : acide glucuronique, galacturonique, etc. C'est à cette fraction que Candlin et Schryver ont réservé le terme générique de polyuronides, bien que des substances telles les gommes, les

mucilages et les pectines soient aussi des polyuronides (Pectine : 80 % d'acide galacturonique).

Le tableau I résume la constitution chimique des hémicelluloses telle qu'on la concevait vers 1932. Les noms de Cross et Bevan y apparaissent parce que c'est au cours de la détermination du taux cellulosique du bois que ces auteurs ont constaté que la cellulose était partiellement liée aux hémicelluloses (fraction : c e l l u l o s a n e s).

Depuis cette époque de nombreuses études ont eu comme aboutissant le fractionnement de ce complexe hémicellulosique .

L'extraction par les alcalis dilués a livré suivant O'Dwyer deux groupes principaux A et B (**9**).

*a ) Obtention du complexe total.*

O'Dwyer préconise un traitement du matériel, le bois en général, par l'eau. Après passage de l'eau, extraction par la solution d'oxalate ammonique 0,5 % puis entraînement à l'hydroxyde sodique en solution à 0,2 %.

Une dernière lixiviation par la solution d'hydroxyde sodique à 4 % livre le bagage hémicellulosique de l'échantillon.

Les traitements préalables à l'eau et la solution d'oxalate éliminent les substances pectiques ; à la soude 0,2 %, les substances protéiniques.

*b ) Fractionnement du complexe.*

La solution sodique donne par acidification légère un premier précipité = fraction A.

Au filtrat : L'addition d'alcool fort fournit un second précipité qui représente la fraction B, la plus riche en acide uronique. La fraction B est généralement présente à un pourcentage moins élevé que la fraction A.

Cette méthode employée dans l'obtention des hémicelluloses de différents bois a été appliquée par nous sur un matériel plus spécial : *Sphagnum.*

La fraction A s'obtient aisément bien que le pourcentage observé par solubilisation ne corresponde guère à celui que l'on constate par voie hydrolytique.

Quant à la fraction B, elle est peu importante et, de plus, difficilement accessible. En effet, l'acidification de la solution sodique par l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique ou l'acide acétique entraîne la formation du sel de soude correspondant, insoluble dans l'alcool fort. De ce fait, l'addition de ce solvant donne lieu à une précipitation abondante qui masque le propre précipité de la fraction B.

L'extraction des hémicelluloses sur ce même matériel, à l'intervention de la méthode de Preece (**10**), n'a donné qu'une fraction analogue à A. Il n'est

d'ailleurs pas mentionné dans cette méthode une différenciation des fractions A et B.

Récemment, le traitement de la tourbe elle-même par la méthode de O'Dwyer nous a démontré l'inutilité de ce processus sur un tel matériel. La tourbe, quelle que soit sa nature, renferme une proportion variable de matières humiques — acides humiques —, qui, au même titre que les hémicelluloses, peuvent être extraites par les solutions diluées d'alcalis et précipitées partiellement de la solution sodique par les acides dilués — acide chlorhydrique — au pH 4.8.

La complication et l'enchevêtrement s'accentuent lorsque l'on considère l'existence de deux fractions distinctes dans le complexe humique.

1° La fraction $\alpha$ s'obtient par neutralisation de la solution alcaline d'extraction ; un excès d'acide entraîne d'ailleurs une dissolution partielle du précipité.

2° La fraction $\beta$ se récupère par addition, au filtrat de $\alpha$, d'une solution d'hydroxyde sodique.

**Dans la tourbe :**

| Hémicelluloses. | Complexe humique. |
|---|---|
| En solution dans NaOH 4 %. | En solution dans NaOH 4 %. |
| + Ac. dilués | Neutralisation par HCl. |
| A. | $\alpha$ |
| Filtrat + Alcool fort | Filtrat + NaOH |
| B. | $\beta$ |

Ce tableau comparatif permet d'entrevoir l'isolement de la fraction $\beta$ du complexe humique qui, dans les tourbes, est négligeable.

L'examen de diverses méthodes d'extraction des hémicelluloses dans leur application à un matériel tourbeux consacre la difficulté de leur emploi. La complexité des substances en présence ne permet guère d'envisager un dosage par voie gravimétrique mais restreint leur estimation à la voie hydrolytique suivie du dosage des réducteurs totaux.

Cette méthode de dosage du bagage hémicellulosique demande un certain nombre d'extractions préalables que Waksman (1) classe comme suit :

1. — Extraction de l'échantillon à l'éther sulfurique.
2. — Extraction de l'échantillon à l'alcool éthylique.
3. — Extraction de l'échantillon à l'eau froide.
4. — Extraction de l'échantillon à l'eau chaude.
5. — Hydrolyse du résidu par l'acide chlorhydrique 2 % pendant 2 × 5 h. à reflux.

Si l'on se reporte aux travaux de Paloheimo sur les substances cellulosiques, on peut modifier le schéma de Waksman comme suit :

1. — Extraction de l'échantillon par un mélange alcool-benzène 1 : 2.
2. — Extraction à l'éther sulfurique.
3. — Extraction à l'eau.
4. — Hydrolyse du résidu par l'acide chlorhydrique 2 % pendant 2 × 5 h. à reflux.

Quoiqu'il en soit, le processus est long et la méthode assez empirique.

2° - Les Celluloses.

Nous n'insisterons pas ici sur les procédés d'extraction de la cellulose qui ont pour principe la mise en solution des matières incrustantes, laissant comme résidu la cellulose plus ou moins pure.

Nous avons utilisé avec succès deux méthodes très différentes.

La première, employée par Waksman (1) dans ses analyses, est la suite d'une longue série de manipulations.

L'échantillon de tourbe, traité par l'éther sulfurique, l'alcool éthylique, l'eau froide, l'eau chaude, subit l'extraction des hémicelluloses.

Le matériel résiduaire est alors destiné au dosage de la cellulose. Un gramme de ce matériel est introduit dans un erlenmeyer de 250 cc. avec 10 cc. d'acide sulfurique 80 % en poids.

Le contact, à température basse, 8 à 12° C, se prolonge durant 2 heures avec agitation périodique. Après ce temps, on ajoute 150 cc. d'eau distillée et on distille à reflux pendant 2 heures.

Le contenu de l'erlenmeyer est alors filtré sur un gooch et lavé jusqu'à élimination d'acidité. Une partie aliquote du filtrat est neutralisée et soumise à la détermination des sucres totaux. Le taux en sucre représente le pourcentage de cellulose vraie.

* * *

La seconde méthode est celle de Scharrer et Kurschner, d'après Beythein (11).

Parmi les nombreuses méthodes signalées dans une littérature abondante et variée, divers essais nous ont conduit à adopter la méthode de Scharrer et Kurschner, d'après Beythein.

En principe, la solution diluée d'acide nitrique contenant de l'acide acétique et de l'acide trichloracétique dissout les substances organiques naturelles à l'exception des celluloses, qui renferment comme impuretés des matières minérales insolubles.

En faisant, avant et après calcination, le résidu des celluloses, on obtient par différence le poids de la cellulose pure.

3° - Les Lignines.

Tout comme pour les hémicelluloses, une définition claire et précise du terme « lignine » est à venir.

Pour l'instant, on peut réserver cette désignation à l'ensemble des constituants organiques, non polysaccharidiques de la paroi cellulaire qui renferment des groupes O—$CH_3$ (Polonovsky et Lespagnol) (**12**).

Un grand nombre de procédés permettent d'isoler la lignine des autres constituants du bois, mais jamais on n'a démontré que les substances ainsi extraites soient identiques à la lignine originellement présente dans l'échantillon.

Les méthodes utilisées pour l'obtention de « lignine d'extraction » sont en quelque sorte des procédés de séparation de la lignine des constituants polysaccharidiques (**13**).

C'est pourquoi il convient, avant de réaliser l'extraction de la lignine, d'éliminer toute une série de constituants particuliers : tanins, résines, cires, gommes, etc.

Les méthodes générales d'extraction peuvent être classées en deux groupes :

1) Méthodes solubilisant la partie polysaccharidique et abandonnant la lignine comme résidu.
2) Méthodes dissolvant la lignine.

Nous nous sommes limité à deux méthodes, après avoir éliminé celle de Reid, Nelson et Aronovsky (Lignine-amylique).

1. — Le schéma préconisé par Waksman (**1**) où la lignine représente la substance résiduaire d'une longue série de manipulations.

En effet, l'échantillon soumis à une extraction par l'éther sulfurique, l'alcool éthylique, l'eau froide et chaude, subit ensuite une hydrolyse à l'acide chlorhydrique 2 % puis à l'acide sulfurique 72 %.

Le résidu de toutes ces manipulations est, après pesée et séchage, divisé en deux portions ; l'une sert à la détermination des cendres ; l'autre à la détermination du taux total en $N_2$.

Le poids total de matériel sec mis en œuvre, diminué du taux en cendres et protéines, donne, après calcul, le pourcentage en lignine de l'échantillon.

2. — La méthode de Klason avec l'amélioration de Paloheimo **(9)**.

L'échantillon subit, au préalable, une lixiviation par un mélange 1 : 2 d'alcool-benzène. Ce traitement est suivi d'une extraction à l'éther sulfurique et enfin d'un lavage à l'eau. Après dessication, chaque gramme de matériel séché est additionné de 50 cc. d'acide sulfurique 66 % —en poids — et agité jusqu'à obtention d'une gelée. On abandonne 48 heures en agitant périodiquement. Le produit de réaction est dilué au moyen d'eau, filtré et lavé à l'eau également. Pour éliminer l'acide sulfurique combiné, le produit de réaction est chauffé 12 heures au bain-marie en présence d'acide chlorhydrique 0,5 %. Après ce temps, le produit résiduel est lavé à l'eau jusqu'à élimination d'une réaction acide, puis séché et pesé.

4° - Les Sucres réducteurs et totaux.

Le résidu d'extraction des lipides est repris par 100 cc. alcool éthylique 90° et après addition de Ca $CO_3$ (environ 0,3 %) soumis à distillation à reflux pendant une heure. On filtre et lave le résidu par l'alcool bouillant. Le filtrat est une solution brun rouge que l'on évapore à 60° C.

Le résidu d'évaporation est repris par 200 cc. d'eau distillée et la solution ainsi obtenue utilisée en vue du dosage des réducteurs par la méthode de Bertrand. Dans le cas d'une étude des tourbes par strates, nous avons aussi essayé la méthode de Folin Wu **(14)**.

L'hydrolyse de la solution sucrée par HCl 3 %, 20 min. à 85° C ou HCl concentré 6,4 cc. par 100 cc. de solution, 5 min. à 67° C **(15)** a démontré l'absence de glucides facilement hydrolysables.

## II. Extraction et dosage des substances éthérosolubles ou solubles dans l'alcool éthylique.

1° - La Fraction éthérosoluble.

Dans un entonnoir à décantation, on introduit 10 gr. de tourbe finement broyée et on ajoute 200 cc. d'éther sulfurique désoxydé (1) ; on laisse macérer pendant six heures puis on soumet à un entraînement pendant vingt-quatre heures.

---

(1) L'obtention de l'éther sulfurique désoxydé est réalisée en incorporant à l'éther un mélange de deux parties de Fe $SO_4$, cinq parties de chaux partiellement éteinte et d'eau ; on soumet à distillation sur bain-marie et on ne récolte que la fraction moyenne du distillat.

Ce procédé peut être rendu plus rapide par l'extraction au soxhlet pendant une heure et demie. On recueille un liquide jaune orange lorsqu'il est chaud, brun foncé à basse température, renfermant la fraction lipidique de l'échantillon (graisse — cire — résine — stérol, etc.).

La solution éthérée, reçue dans un récipient taré, est soumise à évaporation et le résidu pesé.

2° - La Fraction soluble dans l'alcool éthylique.

On procède d'une manière identique pour l'extraction et le dosage de la fraction soluble dans l'alcool.

### III. Détermination physique du pH.

La tourbe prélevée à cet effet est ramenée au laboratoire dans des pots à fleurs rigoureusement propres. L'échantillon consiste en 5 gr. de tourbe fraîche pour chaque strate considérée. Les 5 gr. sont placés au contact de 50 cc. d'eau distillée de pH 5,5 en erlenmeyers paraffinés (verre Pyrex). Après une heure de contact, on filtre et détermine le pH par potentiomètre ou au comparateur de Hellige.

Les prélèvements des échantillons ont été effectués par beau temps mais après une assez longue période de pluie (15 jours environ). Ces détails sont utiles si l'on s'en réfère à la note publiée en 1939 par Léon Delarge (**16**). En effet, cet auteur observe que les alternances de temps pluvieux et secs modifient considérablement le pH des eaux des tourbières. L'écart peut être de deux unités pour l'eau prélevée exactement au même endroit à des moments différents.

## C. CONSIDÉRATIONS SUR LES HÉMICELLULOSES ET LES LIGNINES DANS LES TOURBES

### 1. Les Hémicelluloses.

Dans les tourbes, la variation du taux en matières hémicellulosiques est accompagnée d'une transformation chimique importante.

On constate, en effet, que l'hydrolyse des hémicelluloses du matériel végétal vivant livre des pentoses, initialement sous forme de pentosanes hémicellulosiques alors que les hémicelluloses de la tourbe livrent une grande proportion d'hexoses, initialement hexosanes hémicellulosiques.

Cette observation (**1**) permet de caractériser les tourbes par une accumulation d'hexosanes alors que le matériel générateur se différencie par une réserve en pentosanes.

L'interprétation de cette transformation repose sur la rapidité de destruction des pentosanes par oxydation et fermentation par rapport aux hexosanes beaucoup plus résistants.

De plus, les hexosanes sont aussi synthétisés par les activités biologiques de certains microorganismes du milieu.

**2. Les Lignines.**

Cette substance joue dans la décomposition des constituants végétaux et spécialement dans la rapidité du processus un rôle très important.

La lignine est présente dans les différentes formations de tourbe à un taux supérieur à celui du matériel générateur.

L'accumulation de la lignine parallèlement à l'évolution du sol tourbeux est une caractéristique du chimisme de ce milieu.

Tout se passe comme si la lignine constituait le stade final de décomposition en anaérobiose. Ces complexes ligniques manifestent, en effet, une résistance remarquable à l'attaque des microorganismes anaérobies. En aérobiose, par contre, la décomposition intégrale de ces substances est bien connue ; elle est due à l'activité de certains Actinomycètes et Basidiomycètes ; il suffit de rappeler la destruction complète et rapide du bois à l'intervention de *Fomes annosus* (Fr.) Cke ou de *Phellinus pini* (Th.) Pilat.

L'accumulation des lignines dans les divers types de sols, prend toujours une signification précise quand on examine l'influence de ces substances sur les activités biologiques des microorganismes présents (**17**).

Le taux en lignine règle, dans un sol donné, non seulement la rapidité de la décomposition des constituants organiques, mais détermine encore le résidu final du métabolisme microorganique.

Au début de la décomposition des constituants organiques végétaux, les sucres, la cellulose, les pentosanes, disparaissent rapidement ; la lignine plus résistante subsiste. Dans les tourbes acides, la cellulose est également accumulée mais à un taux inférieur à celui de la lignine. Dans les tourbes basiques, le processus est le même que dans les sols minéraux.

Plus les végétaux sont riches en lignines, plus l'importance du résidu devient grande. Or, on a constaté qu'entre ces lignines résiduelles et les protéines des microorganismes, en voie de dégradation, s'opère une liaison physico-chimique de la nature des ligno-protéinates. Ces derniers forment le composant principal de l'humus.

Celui-ci trouve, donc, sa source première parmi la lignine et les substances analogues. La richesse en humus d'un sol devient ainsi fonction du taux en lignine des végétaux de surface (Tableau II).

## Tableau II

| | Composition du végétal | Composition de la matière organique du sol |
|---|---|---|
| Cellulose ... ... ... ... | 20 — 40 | 3 — 5 |
| Hémicellulose ... ... ... | 15 — 25 | 5 — 8 |
| Lignine ... ... ... ... ... | 10 — 30 | 40 — 50 |
| Protéine ... ... ... ... | 2 — 10 | 30 — 35 |
| Protéine soluble ... ... ... | 15 — 30 | — |

Extrait de : Waksman S. A. et Tenney F. G. 1927 (**18**).

L'humification ou transformation des matières végétales introduites dans le sol, représente une évolution du carbone du sol, l'humus étant une étape de cette évolution.

A ce stade, les noyaux ligno-protéinates complexes des acides aminés : albumoses et bioses à poids moléculaires variables, forment un ensemble noir, pauvre en C mais très riche en $N_2$ (C/N variant de 6/1 à 10/1), doués de propriétés colloïdales.

Waksman et Tenney lui attribuent la composition suivante :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Lignine | 40 à 50 % | Protéine | 30 à 35 % |
| Cellulose | 3 à 5 % | Hémicelluloses | 5 à 8 % |

La comparaison entre les résidus végétaux à rapport C/N élevé — 30/1 à 90/1 — et l'humus à rapport C/N très faible — 10/1 — caractérise le phénomène d'humification par un appauvrissement graduel en C et un enrichissement proportionnel en $N_2$.

Suivant Mattson (**18**), l'humus doit être considéré comme un complexe à caractère ampholytique prononcé.

L'humus serait composé de constituants acidoïdes (caractère acide ou anionique) provenant de la lignine et de constituants basoïdes (caractère basique ou cationique) issus des corps protidiques. Tout comme le rapport C/N, dépassant rarement 10/1 dans la nature, conditionne l'activité des microbes dans le sol, le rapport pondéral des substances ligniques et protéiniques conditionne les propriétés colloïdales de l'humus.

Ces considérations situent brièvement le problème de la genèse de l'humus et de sa signification pédologique mais n'expliquent pas encore son influence sur la microbiologie des sols.

La transformation des matières végétales incorporées aux sols — (humification) — est essentiellement un processus microbiologique. L'activité de la flore et de la faune des sols est étroitement liée à un faisceau de facteurs

tels que des conditions physiques adéquates, des substances énergétiques appropriées et enfin des substances plastiques variables selon les genres et espèces.

Les rapports entre ces diverses substances doivent d'ailleurs être strictement définis.

Les substances énergétiques se recrutent parmi les composés organiques aisément oxydables alors que les matériaux constitutifs du protoplasme, riches en sels minéraux, s'identifient aux substances plastiques.

Les composés azotés oscillent entre les deux groupes en ce sens que certains sont énergétiques et d'autres plastiques.

La grandeur du rapport C/N a une importance capitale dans la nutrition d'un microorganisme. Il faut, en effet, entre l'azote et la matière énergétique, représentée par les hydrates de carbone, un rapport C/N qui ne soit pas supérieur à 20/1 pour les champignons et à 8/1 pour les bactéries.

Toute matière organique répondant à une telle composition renferme tout ce qui est nécessaire à la prolifération microbienne (matières herbacées, tiges vertes des légumineuses, fumier de ferme avancé).

Il existe, cependant, de nombreuses substances telles que le chaume, la cellulose, la lignine, etc., qui ont un rapport C/N très élevé variant de 30/1 à 100/1.

Ces rapports caractérisent une déficience nette en azote qui inhibe ultérieurement l'élaboration des protides cellulaires (cas des tourbes).

Les microorganismes prennent, dans une telle situation, leurs substances azotées parmi les sels azotés du sol ou, s'il s'agit du genre *Azotobacter* et *Clostridium*, dans l'azote atmosphérique.

Néanmoins, dans de telles conditions, l'attaque de la matière organique est freinée en fonction de l'azote disponible. Il s'ensuit une minéralisation ralentie et une quantité de sels solubles plus réduits.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
*Laboratoire de Physiologie végétale*
*et*
*Station scientifique du Mont-Rigi*

# BIBLIOGRAPHIE


1. — Selman A., Waksman and Steven: K. R. — Contribution to the chemical composition of peat, I-IV. *Soil Sc.*, 26, 1928, pp. 113-137, 239-252 ; 27, 1929, pp. 271-281, 389-398.

2. — Weigmann. — Ueber die Entstehung, Bildung und das Wesen des Torfes. Braunschweig, 1837.

3. — Websky. — Beitraege sur Erkenntnis der Zusammensetzung und Bildung des Torfes. *Journ. Prakt. Chem., 92, 1864.*

4. — von Feilitzen H. et Tollens B. — Ueber den Gehalt des Torfes an Pentosan und anderen Kohlenhydraten. *Journ. Landw., 46-7-22, 1898.*

5. — Zaïler et Wilk. — Ueber den Einfluss der Pflanzenkonstituenten auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Torfes. *Zeitschr. Moork. u. Torfverwert.*, 5, pp. 40-64, 111-128, 197-260, 1907.

6. — Hawley L.-F. and Geoffrey Norman A. (Laboratoires de Madison). — The differentiation of Hemicelluloses. *Ind. and. Eng. Chem.*, vol. 24, oct. 1932, p. 1190.

7. — Cités dans : Tottingham W.-E., Robert R.-H. and Lepkovsky S. — Hemicelluloses of apple wood. *Journ. of Biological Chem.*, vol. XLV,, n° 3, Feb. 1921.

8. — Candlin and Schryver. — The differenciation of Hemicelluloses. *Proc. Roy. Soc.*, London, 1928, B. 103/365.

9. — Cité dans : Louis E. — Wood Chemistry. *Monograph. Series*, 1946, 97 A. C. S.

10. — Weihe H.-D. and Phillips M. — The quantitative estimation of Hemicelluloses by direct isolation. *Journ. of Agric. Res.*, vol. 74, n° 3, Feb. 1947.

11. — Cités dans Vivario R. — Méthodes d'analyse des denrées alimentaires. 1946.

12. — Polonowsky et Lespagnol. — Chimie organique biologique. Paris, 1941.

13. — Guillemonat A. — Le bois, matière première de la chimie moderne. Paris, Dunod, 1942.

14. — Mathews. — Physiological chemistry. 1925.

15. — Wattiez et Sternon. — Eléments de chimie végétale. Paris, Masson, 1942.

16. — Delarge L. — Variations du pH des eaux des tourbières de la Baraque-Michel sous l'influence de la pluie et de la sécheresse. *A. F. A. S.*, 63me session, Liège, 1939.

17. — Beirnaert A. — La technique culturale sous l'Equateur, I. *Publications de l'INEAC*, série technique, n° 26, 1941.

18. — Cités dans : De Leenheer L. et Wagemans G. — Le sol : introduction à la Pédologie, 1945.

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1948, pp. 57-69.

# ÉTUDE BIOCHIMIQUE DES TOURBIÈRES ACIDES

de la

# BARAQUE-MICHEL

## II. ANALYSES DE PROFILS

par

**Jean L. RAMAUT,** Lic. Sc.

### INTRODUCTION

Dans une note précédente **(1)** où nous mettions l'accent sur le manque de données précises concernant la chimie et la microbiologie des tourbières acides de notre pays, nous avons fait une mise au point succincte de divers procédés d'extractions et de dosages des constituants principaux des tourbes.

Nous nous sommes attaché, non seulement à l'examen des subtances glucidiques, mais aussi à celui de divers complexes séparables par les solvants carbonés tout comme WAKSMAN et ses collaborateurs **(2, 3)** l'ont préconisé dans divers travaux.

Dans le présent travail, nous avons étudié du point de vue chimique des échantillons de tourbe prélevés dans des conditions déterminées et en des endroits où la couverture végétale habituelle d'une tourbière acide présentait certaines particularités : immixion de *Molinia coerulea*, ou régression anormale du tapis de *Sphagnum*.

De multiples observations faites sur le terrain, nous ont en effet permis de constater qu'en plusieurs points des Hautes-Fagnes et en particulier au « Trou-Brouly » (1) la végétation de la tourbière présente certaines aberrations (Pl. 5 fig. 1).

Se basant sur ces variations floristiques, nous avons considéré, arbitrairement d'ailleurs, des régions à végétation dite « typique » et des endroits à végétation dite « aberrante ».

(1) « Trou-Brouly » : portion des Fagnes située sur la droite de la route de Jalhay à la Baraque-Michel, au niveau du signal géodésique. Cette région fangeuse a été fortement remaniée au cours de l'histoire : exploitation de la tourbe, drainages, plantations locales d'épicéas. Dans certains secteurs, la végétation typique de la tourbière a été remplacée par une végétation dégradée à *Molinia coerulea*.

La question s'est alors posée pour nous de comparer les caractéristiques chimiques des tourbes rencontrées sous l'une et l'autre végétation.

Dans cette note, nous donnerons également les premiers résultats obtenus par l'analyse de plantes capables de former de la tourbe ou susceptibles d'entrer dans sa composition. Ces analyses n'ont pas été faites en corrélation étroite avec un endroit particulier des Hautes-Fagnes ; elles conservent de ce fait une portée générale.

Les résultats, acquis par l'analyse de tourbes et de végétaux, ont une valeur purement statique, car nous n'aborderons pas ici l'étude de l'évolution des constituants végétaux depuis la plante jusqu'à la tourbe. Nous nous réservons d'aborder, dans un prochain travail, le problème des transformations subies par une végétation donnée depuis le stade plante verte jusqu'à la tourbe sous ses différents aspects.

Cette note traitera donc de deux questions bien distinctes : l'analyse d'échantillons de tourbes prélevés en des endroits marqués par une végétation superficielle différente ; l'analyse des végétaux capables de produire de la tourbe au cours des transformations et dégradations successives.

Le travail se présentera comme suit :

A. — Matériel et méthodes.
B. — Analyse de tourbe prélevée dans une région à végétation « typique ».
C. — Analyse de tourbe prélevée dans une région à végétation « aberrante ».
D. — Comparaison des résultats et discussion.
E. — Analyse chimique de quelques végétaux de tourbière.

## A. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1° Végétation.

Parmi les végétaux que l'on rencontre dans les associations végétales des tourbières acides, nous avons analysé les espèces suivantes :

*Erica tetralix*
*Calluna vulgaris*
*Andromeda polifolia*
*Eriophorum vaginatum* (Turfigène)
*Molinia coerulea* (Turfigène)
*Rhynchospora alba*
*Menyanthes trifoliata*
*Comarum palustre*
*Sphagnum sp.* (Turfigène).

Toutes ces plantes comportent racines, tiges et feuilles. Chacun des exemplaires est alors stabilisé par l'alcool éthylique bouillant pendant 20 minutes. On filtre et on récolte un soluté alcoolique utilisé ultérieurement. Après dessiccation du matériel stabilisé, on le soumet au broyage afin d'obtenir une poudre propre aux différentes analyses.

Ce dernier a été traité par divers solvants carbonés destinés à nous renseigner sur le bagage lipidique, glucidique et protéïnique de l'échantillon. Nous avons ainsi appliqué aux végétaux des schémas d'examen que WAKSMAN préconisait aussi pour la tourbe.

Le matériel végétal a subi successivement :

Une extraction et un dosage des substances solubles dans l'éther sulfurique.
Une extraction et un dosage des substances solubles dans l'alcool éthylique.
Une extraction et un dosage des hemicelluloses.
Une extraction et un dosage des celluloses.
Une extraction et un dosage des lignines.
Un dosage de l'azote total.

**2° Tourbe.**

La tourbe originaire du « Trou-Brouly » a été prélevée d'une façon identique, qu'il s'agisse des endroits à végétation caractéristique ou à végétation aberrante. Le sol est débarrassé de la végétation et la tourbe ainsi mise à nu représente le niveau zéro (Pl. 5 fig. 2).

Au moyen d'une pelle de tourbeux, nous ouvrons alors une tranchée et avec ce même instrument nous prélevons des échantillons à différents niveaux depuis 0 jusqu'à 60 cm. de profondeur (région à végétation aberrante) ou depuis 0 jusqu'à 1 m. (région à végétation typique). Les échantillons sont ramenés au laboratoire dans des bacs en zinc paraffinés. La dessication de la tourbe a été effectuée à l'étuve à 40 - 50° C. Le séchage accompli, les échantillons sont réduits en poudre au mortier et ainsi prêts pour l'analyse.

La tourbe a été traitée dans les mêmes buts que le matériel végétal. Notons cependant que les mesures physiques (pH et eau), de peu d'intérêt sur le végétal, revêtent dans la tourbe une grande importance. Sur ce matériel, nous avons réalisé les mesures suivantes :

Détermination potentiométrique du pH.
Détermination de la teneur en eau des échantillons.
Dosage de la fraction éthérosoluble.
Dosage des sucres totaux et réducteurs (cas de la végétation aberrante).
Dosage des hemicelluloses.
Dosage des celluloses.
Dosage des lignines (cas de la végétation typique).
Dosage azote total (cas de la végétation typique).
Dosage des matières minérales.

Pour le matériel végétal et la tourbe, les méthodes chimiques appliquées en vue des extractions et dosages ont fait l'objet d'un travail précédent. (1)

## B. ANALYSE I: ÉCHANTILLONS PRÉLEVÉS DANS UNE RÉGION A VÉGÉTATION DITE "TYPIQUE„

### TABLEAU I

Trou Brouly. - Analyse I

| Niveaux | pH | Humidité | Cendres | Fraction éthérosoluble | Fraction soluble alcool | $N_2$ total | Lignines | Celluloses | Hémicelluloses | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **5 cm.** | 4.10 | 80.4 | 3.5 | 1.5 | 3.6 | 2.5 | 37.5 | 20.0 | 14.6 | 83.2 |
| **5 - 15 cm.** | 3.75 | 78.8 | 3.5 | 2.4 | 0.5 | 1.7 | 40.2 | 21.6 | 12.6 | 86.1 |
| **15 - 25 cm.** | 3.85 | 82.8 | 4.0 | 3.5 | 5.4 | 1.45 | 40.04 | 23.5 | 14.31 | 92.1 |
| **25 - 40 cm.** | 3.80 | 88.0 | 4.5 | 5.7 | 4.8 | 1.25 | — | 19.0 | 12.51 | — |
| **40 - 60 cm.** | 3.70 | 87.5 | 1.25 | 6.5 | 6,1 | 1.65 | 44.0 | 18.0 | 9.6 | 87.1 |
| **60 cm.** (*) | 4.10 | 88.0 | 3.0 | 4.4 | 4.0 | 1.1 | 45.5 | 20.0 | 11.34 | 89.3 |
| **80 cm.** (*) | 4.90 | 89.5 | 3.5 | 5.7 | 4.7 | 1.25 | 45.8 | 19.0 | 9.0 | 88.9 |
| **80 -100 cm.** | 4.90 | 90.3 | 0.55 | 6.7 | 3.1 | 1.4 | 49.3 | 23.0 | 8.6 | 92.6 |

Résultats exprimés en p.c. de matière sèche. Tourbe prélevée sous un tapis de *Sphagnum*. ( photo pl. 6 fig. 1 )

(*) Entre 60 et 80 cm. de profondeur, l'aspect assez peu homogène de la strate nous a amené à considérer le niveau 60 et le niveau 80, et non l'intervalle. Les résultats justifient d'ailleurs cette façon de voir.

**Examen de l'analyse I.**

1. — L'Acidité. — Elle diminue quand l'âge des strates augmente (Pl. 3 diagr. 1).
2. — Teneur en eau. — Assez faible dans les strates de surface (influence des conditions météorologiques du moment), elle s'accroît progressivement jusqu'à 1 m. de profondeur (Pl. 3 diagr. 2).
3. — Fraction éthérosoluble. — Elle atteint une valeur moyenne de 4,5 %. On observe une augmentation croissante du taux en substances éthérosolubles en fonction d'un âge plus avancé de la strate de tourbe. La fraction soluble dans l'alcool, d'un taux moyen de 4 %, donne lieu aux mêmes constatations.
4. — Fraction « azote total ». — Elle diminue à mesure que l'on s'éloigne du niveau 0. La première strate riche en débris radiculaires conserve une valeur proche de celle des matériaux générateurs.

5. — Hémicelluloses. — Le taux décroît légèrement avec l'augmentation d'âge de la strate considérée et gravite aux environs d'une moyenne de 11,5 %.

6. — Celluloses. — Le taux moyen est de 20,5 %. Il n'y a guère de variations lorsque l'on passe d'une strate à la suivante.

7. — Lignines. — La teneur croît avec l'âge des strates analysées.

8. — Matières minérales. — Le pourcentage diminue des couches plus jeunes aux plus anciennes.

* * *

Cette première série d'analyses fut suivie de l'examen des strates de tourbe, toujours au « Trou-Brouly », appartenant à un ensemble marqué par une végétation dite « aberrante ».

La région où fut prélevée la tourbe était colonisée par des touffes abondantes de *Molinia coerulea*. De-ci de-là, quelques touffes de *Polytrichum* sp. *Calluna vulgaris* et *Vaccinium myrtillus* (Pl. 6 fig. 2, pl. 7).

## C. ANALYSE II : ÉCHANTILLONS PRÉLEVÉS DANS UNE RÉGION A VÉGÉTATION DITE "ABERRANTE„

### TABLEAU II

Trou Brouly - Analyse II

| Profondeur en cm. | pH | Humidité | Cendres | Fraction hétérosoluble | Sucres totaux | Hémicelluloses | Celluloses |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 - 5 | 4.55 | 72.75 | 2.9 | 2.25 | 0.18 gr. | 15.3 | 18.5 |
| 5 - 10 | 4.50 | 80.35 | 2.9 | 2.55 | 0.11 gr. | 14.8 | 17.9 |
| 10 - 15 | 5.25 | 82.10 | 2.0 | 2.10 | Moins de 0,1 milligramme | 14.8 | 20.3 |
| 15 - 20 | 5.30 | 85.20 | 1.0 | 1.46 | | 9.2 | 26.3 |
| 20 - 25 | 5.50 | 85.60 | 1.0 | 2.20 | | 12.2 | 24.9 |
| 25 - 30 | 5.40 | 85.85 | 5.0 (*) | 2.09 | | 8.0 | 33.4 |
| 30 - 60 | 6.05 | 84.90 | 10.0 (*) | 2.40 | | 3.5 | 20.4 |

Résultats exprimés en p.c. de matière sèche.

(*) Le taux en matière minérale des deux dernières strates s'apparente probablement avec le niveau atteint par un incendie. De ce fait, il y a eu accumulation de cendres.

**Examen de l'analyse II.**

1. — Acidité naturelle. — Elle diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne du niveau 0. La variation de pH entre 0 et 60 cm. de profondeur est de 1,50 (Pl. 4 diagr. 1).

2. — Teneur en eau. — Elle augmente brusquement du niveau 0 au niveau 10 puis continue à s'accroître lentement (Pl. 4 diagr. 2).

Rappelons qu'à ce même endroit, des mesures de teneur en eau effectuées en 1938 (Crucifix et Closset, **4**) donnent :

| | |
|---|---|
| à 0,50 m. de profondeur . . . . | 84.7 |
| à 1,— m. de profondeur . . . . | 90.0 |
| à 1,50 m. de profondeur . . . . | 46.6 |

Ce dernier résultat était dû au fait qu'il ne s'agissait plus uniquement de tourbe, mais d'un mélange tourbe-argile.

3. — Sucre. — La méthode de Folin-Wu, permettant de doser des quantités de sucre de l'ordre de 1/10 de mgr par c. c., n'a donné aucun résultat positif pour les strates où la méthode de Bertrand s'avérait non utilisable. (Strates 10 à 60). Cette pauvreté en réducteurs s'interprète aisément si l'on fait intervenir la mobilisation des sucres simples par les micro-organismes du milieu.

4. — Fraction éthérosoluble. — Valeur moyenne : 2,1 %. La strate 15-20 cm. (1,46 %) était constituée par de la matière moins décomposée. A ce niveau on remarquait, en effet, de nombreux débris végétaux conférant à la strate une texture fibreuse.

5. — Hemicelluloses. — Taux moyen : 11,1 %. Diminution progressive du taux en hémicelluloses avec une augmentation d'âge des strates. Les deux strates sont sujettes à une variation brusque.

6. — Celluloses. — Taux moyen : 23,1 %. Taux à peu près constant dans toutes les strates analysées.

7. — Cendres. — Les strates les plus anciennes sont moins riches en matières minérales que les plus jeunes. Notons seulement une valeur anormale dans les deux dernières strates.

**Comparaison des analyses I et II**

De la comparaison des caractéristiques chimiques propres à la région typique et de celles des endroits marqués par une aberration du tapis végétal superficiel, il ressort que :

1° Une colonisation du sol par une végétation aberrante déplace les valeurs de pH vers une zone moins acide.

2° La teneur en eau des endroits à végétation typique est généralement plus grande que celle de ce même facies modifié.

3° La fraction soluble dans l'éther sulfurique, d'une moyenne de 4,5 % dans le « Hochmoor » intact, est réduite à 2,1 % dans les endroits à végétation aberrante.

4° Les Hémicelluloses, d'un taux de 11,5 %, évoluent peu et restent à 11,1 % dans le cas de la région à végétation aberrante que nous avons considérée.

5° La Cellulose offre un taux moyen de 23,5 % dans les parties dénaturées, alors que la région intacte livre un taux moyen de 20,5 %.

6° La teneur en substances minérales dans le profil intact est inférieure à celle que révèle l'examen de la région à végétation aberrante.

Cette comparaison entre les caractéristiques chimiques des régions demeurées « Hochmoor » pur et celles d'endroits marqués d'une évolution artificielle, fait ressortir les répercussions des influences extérieures sur la composition même du substrat.

Si l'on s'en réfère aux travaux de WAKSMAN et de ses collaborateurs **(2, 3)**, on peut avantageusement utiliser une classification des tourbes basées sur des caractéristiques chimiques. Cette classification, que nous résumerons ici brièvement, nous servira dans la caractérisation des types de tourbe analysés au Trou-Brouly et nous permettra d'accorder un certain sens d'évolution à la formation rencontrée par nous sous une végétation du type « aberrante ».

Disons tout de suite que nos résultats sont en accord avec les observations que ces auteurs ont faites en diverses régions du New-Jersey.

## TABLEAU III

Analyse de quelques types de formations tourbeuses. (WAKSMAN)

| Peat constituent | Tourbe basique Lowmoor au-dessus de 12 cm. | Tourbe sédim. Saw Grass peat from Florida. 7 - 20 cm. | Tourbe sédim. Sedimentary peat 62 - 70 cm. | Lake peat Florida 60 - 120 cm. | Tourbe forestière Forest peat New-York | Tourbes acides Jeune Sphagnum peat Allemagne | Tourbes acides Vieux Sphagnum peat Allemagne | Tourbes acides Sphagnum peat Orono |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Fr. sol. éther | 0.66 | 2.98 | 2.97 | 0.41 | 3.22 | 3.08 | 5.73 | 2.45 |
| Fr. hydrosoluble | 3.08 | 1.73 | 1.07 | 0.71 | — | — | — | — |
| Hémicelluloses | 10.31 | 6.41 | 2.19 | 4.17 | 5.44 | 16.88 | 9.08 | 20.92 |
| Celluloses | 0 | 0.28 | 0 | 0 | 2.68 | 19.44 | 12.38 | 16.23 |
| Lignines | 38.35 | 46.12 | 19.33 | 35.19 | 60.73 | 34.04 | 52.50 | 25.43 |
| Protéines | 22.48 | 23.06 | 9 | 15.06 | 14.30 | 5.23 | 5.78 | 5.72 |
| Cendres | 13.22 | 10 | 59.60 | 39.56 | 3.90 | 1.72 | 1.38 | 1.84 |
| Total | 88.10 | 90.56 | 94.16 | 95.10 | 89.67 | 80.39 | 86.85 | 72.59 |
| pH | 5.9 | 6.2 | — | 7.25 | 4.7 | 4.1 | 4.2 | 3.95 |

### Analyse particulière d'un Highmoor Peat

Dans le cas d'un profil *Highmoor peat :*

a) L'acidité diminue de la surface vers la base du profil (3,8 - 4,7).

b) La teneur en lignine augmente graduellement avec l'âge de la formation.

c) La fraction soluble dans l'éther s'élève progressivement avec l'ancienneté de la strate. Il en est de même avec la fraction alcoolique.

d) Le contenu en matières azotées ne revêt d'importance qu'en strates de base.

e) Le contenu en celluloses et hémicelluloses, presque identique à celui du matériel frais, ne subit une variation marquante qu'en base de profil.

f) Augmentation appréciable des substances minérales en fin de profil.

TABLEAU IV

Composition chimique approximative d'un Highmoor Peat

Cherryfield. Maine

| Profondeur en cm. | pH | Fraction éthérosoluble | Fraction soluble alcool | Hémicelluloses | Celluloses | Lignines | Protéines | Cendres |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1-8 | 4.05 | 2.35 | 1.45 | 26.45 | 16.36 | 27.18 | 4.08 | 2.00 |
| 8-20 | 3.95 | 2.62 | 1.92 | 25.24 | 14.74 | 29.21 | 4.28 | 1.14 |
| 20-30 | 3.85 | 2.82 | 1.83 | 24.55 | 15.97 | 28.85 | 5.11 | 1.02 |
| 30-46 | 3.86 | 2.57 | 2.08 | 22.45 | 13.69 | 32.23 | 5.24 | 0.90 |
| 46-61 | 3.73 | 2.96 | 3.20 | 18.48 | 14.66 | 33.24 | 4.81 | 1.06 |
| 183-214 | 4.47 | 3.97 | 3.15 | 15.94 | 15.55 | 37.43 | 4.41 | 0.99 |
| 460-480 | 4.71 | 4.89 | 4.20 | 12.69 | 11.85 | 44.83 | 4.73 | 1.10 |
| 550-580 | 5.18 | 5.97 | 5.06 | 5.96 | 5.06 | 54.11 | 11.53 | 2.83 |

Résultats exprimés en p.c. de matériel sec.

### Analyse particulière d'un Lowmoor Peat

Dans le cas d'un profil *Lowmoor peat :*

a) L'alcalinité s'élève de la surface vers la base du profil (5,5 - 8).

b) Le contenu en matières minérales ne subit une variation appréciable que dans les strates de base.

c) La lignine et les substances analogues forment la partie la plus importante de tout le profil.

d) En ordre d'importance, suivent alors les matières azotées et les hémicelluloses. On constate que dans le matériel frais, la triade de combinaisons principales est représentée par cellulose-pentosane-lignine, alors que la tourbe donne : hémicelluloses-protéïnes-lignine.

e) Les fractions solubles dans l'eau et l'éther varient peu à travers le profil.

## TABLEAU V

**Composition chimique d'un profil de Newton, N. J.**

| Profondeur en cm. | Humidité naturelle | pH | Fraction éthérosoluble | Fraction hydrosoluble | Hémicelluloses | Lignines | Protéines | Cendres |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **12** | 78.7 | 5.9 | 0.66 | 3.08 | 10.31 | 38.35 | 22.48 | 13.22 |
| **80** | 86.6 | 6.3 | 1.10 | 1.24 | 8.95 | 50.33 | 18.72 | 10.13 |
| **160-180** | 90.5 | 6.3 | 0.49 | 2.31 | 7.02 | 57.83 | 14.81 | 10.35 |
| **160** | 86.2 | 6.7 | 0.78 | 1.14 | 7.51 | 42.10 | 19.81 | 15.00 |
| **Lake peat** | 88.1 | 6.8 | 0.67 | 0.81 | 12.14 | 33.25 | 19.38 | 24.87 |
| **Couche sédim.** | 80.9 | 8.0 | 0.36 | 1.24 | 5.92 | 15.62 | 9.81 | 59.55 |

Pourcentage en matière sèche.

Il n'y a pas de cellulose vraie dans ce profil.

Un *Forest peat* présente des caractères intermédiaires entre les deux types signalés antérieurement.

La nature chimique des tourbes est non seulement intimement liée aux associations végétales de surface, mais aussi à la flore microbienne qu'elle contient.

Ce dernier point fera l'objet d'un travail ultérieur.

## D. COMPARAISON DES RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les analyses effectuées en différents points du « Trou-Brouly » ont démontré qu'il existait en cet endroit deux types de tourbe bien distincts :

a) Une formation appartenant au type Hochmoor (Tableau I).

b) Une formation résultant d'une altération du Hochmoor initial (Tableau II).

a) La formation intacte peut-être comparée à des profils acides étrangers (Tableau IV). Du point de vue acidité, les valeurs sont voisines. Les fractions solubles dans l'éther et l'alcool sont d'un ordre de grandeur supérieur aux valeurs rencontrées dans les tourbières du New-Jersey. L'accroissement progressif du taux en substances éthérosolubles et solubles-alcool parallèlement à un âge plus ancien de la tourbe reste cependant une caractéristique des tourbes acides. Le taux en hémicelluloses s'avère souvent inférieur à ce que l'on observe dans la plupart des tourbes dites acides du New-Jersey ; sauf si l'on considère les couches profondes de ces formations. La lignine a un pourcentage croissant en fonction de l'âge des strates considérées. Les valeurs observées concordent avec les résultats des formations du New-Jersey.

La fraction azotée présente un pourcentage comparable à celui d'autres tourbières acides.

Les valeurs élevées des fractions solubles dans l'éther et l'alcool pourraient correspondre à l'influence des végétaux particulièrement riches en substances solubles dans ces solvants.

Le pourcentage faible en hémicelluloses, dans les strates de surface, pourrait s'expliquer par une activité bactérienne plus intense dans nos tourbières que dans les tourbières du New-Jersey à un même niveau.

b) La comparaison des observations faites dans les régions à végétation aberrante (Tableau II) avec les caractéristiques chimiques des profils acides étrangers (Tableau IV) nous a permis d'établir le sens d'évolution de la tourbière acide originelle.

1° La teneur en eau des tourbes du « Trou-Brouly » (Tableau II) ne peut être comparée aux valeurs caractérisant les tourbières acides du New-Jersey ou autres.

Waksman **(2, 3)** signale dans les tourbes du Maine (Cherryfield) une teneur en eau qui, de la surface à 5,70 m. de profondeur, ne descend jamais en-dessous de 92 %.

Dans le profil d'un *Sphagnum peat* de Orono (Maine) de la surface à 3,30 m. de profondeur, on ne descend guère en-dessous de 89 %. Nos résultats expriment un assèchement des tourbières du « Trou-Brouly », tout au moins, aux points d'analyses.

2° L'acidité de la tourbe (Tableau II) est plus faible que dans les profils acides (Tableau III), mais cependant plus grande que dans les profils basiques (Tableau V).

3° La fraction soluble dans l'éther sulfurique (Tableau II) révèle un pourcentage légèrement inférieur à celui des tourbières acides du Maine,

mais très différent du Hochmoor intact de nos régions (Tableau I).

4° Le taux en hémicelluloses est inférieur à celui des profils du New-Jersey et même à celui du Hochmoor non altéré.

5° Le pourcentage des substances minérales s'écarte fortement des valeurs compatibles avec les profils dits acides (Tableau III).

6° La cellulose dans l'une et l'autre des régions analysées se présente avec un taux supérieur à celui que l'on observe dans les profils étrangers.

L'ensemble des observations et les résultats issus de comparaisons avec d'autres profils acides permettent de conclure que : à la région à végétation aberrante ne correspond plus une tourbe dite acide. La formation nouvelle conserve par quelques points un caractère proche de la tourbière acide ; mais représente par la majorité de ses caractères une tourbe intermédiaire entre le profil acide et le type dit « Forestier ».

## E. ANALYSE CHIMIQUE DE QUELQUES VÉGÉTAUX TURFIGÈNES

La préparation des échantillons et les manipulations auxquelles ils ont été soumis étant décrites précédemment, nous signalerons les plantes qui ont fait l'objet d'un examen chimique (Pl. 8).

TABLEAU VI

| Plantes | $N_2$ total | Fraction éthérosoluble | Fraction soluble alcool | Hémicelluloses | Celluloses | Lignines | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Calluna* | 3 7 | 0.94 | 4.4 | 16.2 | 25.2 | 24.6 | 84.6 |
| *Erica* | 2.2 | 2.80 | 3.5 | 15.0 | 22.4 | 45.3 | 91.2 |
| *Andromeda* | 2.4 | 3.60 | 6.4 | 14.4 | 29.6 | 29.6 | 86.0 |
| *Eriophorum* | 3.6 | 2.20 | 10.4 | 22.4 | 26.0 | 29.6 | 92.2 |
| *Menyanthes* | 4.0 | 0.18 | 13.9 | 12.2 | 19.3 | 17.2 | 66.7 |
| *Comarum* | 2.4 | 2.0 | 9.2 | 25.2 | 17.2 | 19.3 | 75.3 |
| *Molinia* | 4.7 | 2.3 | 5.8 | 14.9 | 27.7 | 12.4 | 67.8 |
| *Rhynchospora* | 4.2 | 1.4 | 3.0 | 21.4 | 28.1 | 29.2 | 84.3 |
| *Sphagnum* | — | 1.47 | — | 30.82 | 21.13 | 6.97 | — |

Il s'agit de *Calluna vulgaris*, *Erica tetralix*, *Andromeda polifolia*, *Menyanthes trifoliata*, *Comarum palustre*, *Molinia coerulea*, *Eriophorum vaginatum*, *Rhynchospora alba* et *Sphagnum sp.*

Ces analyses permettent de constater que :

1° Le taux des matières éthérosolubles a une valeur moyenne de 1,9 % dans toutes les plantes analysées.

2° En général, le taux protidique ou celui d'azote total est peu élevé.

3° La fraction soluble dans l'alcool éthylique atteint une moyenne de 7 % et les valeurs les plus élevées sont attribuées à des plantes vivant dans un milieu très humide, voire complètement aqueux (*Comarum*, *Menyanthes*).

4° Le taux en hémicelluloses atteint une moyenne de 15 à 19 % et, à nouveau, ce sont les plantes d'endroits très humides qui accusent le taux le plus élevé (*Eriophorum*, *Comarum*, *Menyanthes*, *Sphagnum*, etc.).

5° Le pourcentage en cellulose est de 25 %. Ici les valeurs les plus faibles appartiennent généralement aux plantes des endroits humides. Ce sont évidemment les espèces arbustives et sous-arbustives qui montrent les taux les plus élevés (*Andromeda*, *Calluna*, *Erica*).

6° Taux moyen en lignines : 27 %. Les valeurs minimales sont ici attribuées à *Menyanthes*, à *Comarum* et enfin à *Molinia coerulea*, plante qui semble s'accommoder tout aussi aisément d'un terrain très humide que d'un terrain assez sec.

7° Cendres : pourcentage moyen 3,5 % ; en général faible.

Les résultats que nous présentons ici ont une valeur purement statique et ne peuvent en aucun cas être comparés aux résultats obtenus sur les divers échantillons de tourbe.

Ils nous serviront de base lors d'une analyse systématique de la tourbe en relation directe avec la nature des végétaux qui l'ont formée.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut de Botanique
Laboratoire de Physiologie végétale
et
Station scientifique du Mont-Rigi

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — Ramaut J. — Etude biochimique des tourbières acides de la Baraque-Michel. Introduction et techniques. *Lejeunia*, t. XII, 1948, pp. 43-56.

2. — Waksman S. A. — Chemical composition of peat and the role of microorganisms in its formation. *Journ. of Sciences*, vol. XIX, Jan. 1930.

3. — Waksman S. A. — The peats of New-Jersey and their utilization. *N. Y. State Dep. Cons. and Dev. Bull. 55, Geologic Serv.*, Trenton, 1942.

4. — Crucifix et Closset. — Imbibition avant et après dessication de la tourbe de la Baraque-Michel. *Bull. Soc. roy. Sciences de Liège*, 1938, nos 3, 4 et 5.

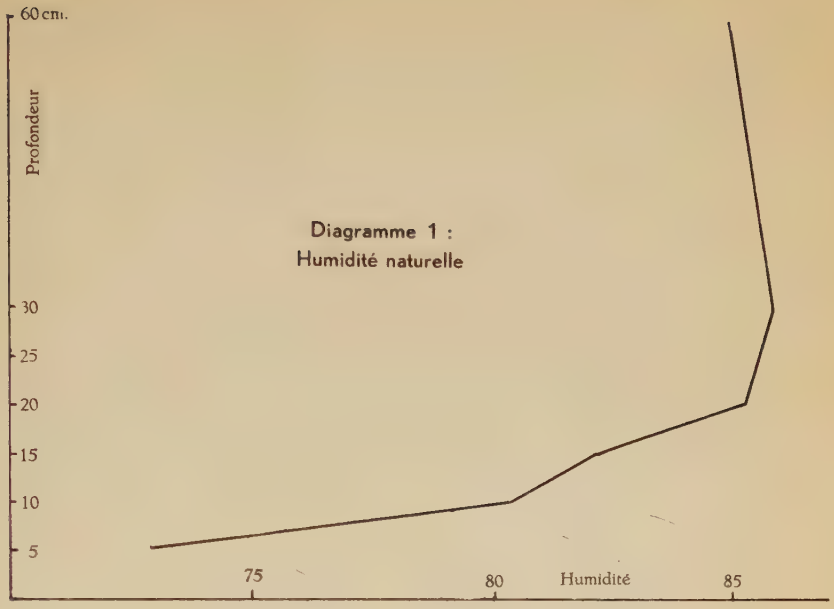



Diagramme 1 :
Humidité naturelle

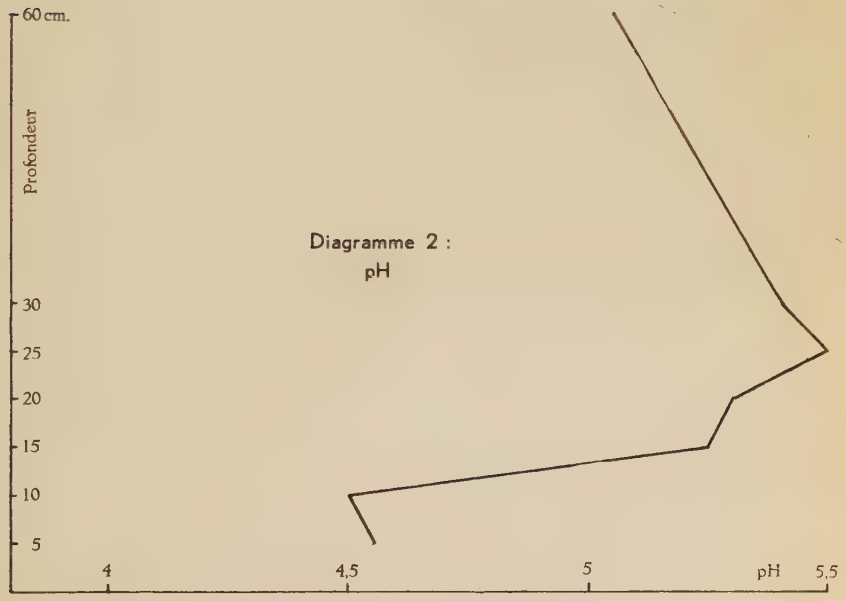



Diagramme 2 :
pH

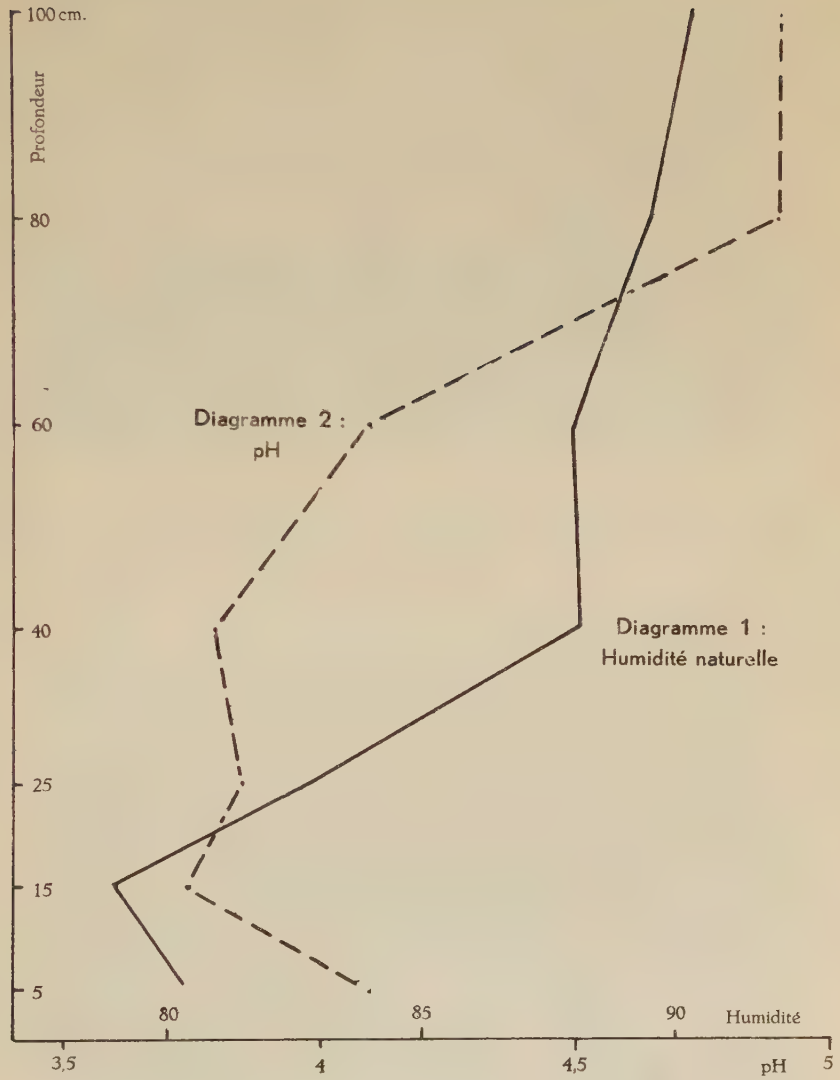
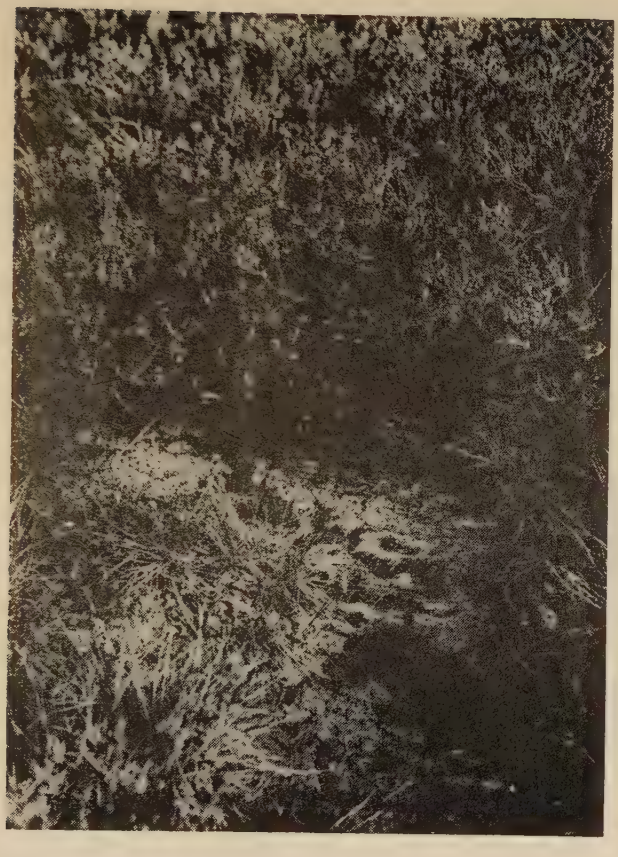

100 cm.
Profondeur
80
60
40
25
15
5
Diagramme 2 :
pH
Diagramme 1 :
Humidité naturelle
80
85
90
Humidité
3,5
4
4,5
pH
5

Fig. 1 - Aspect général des tourbières altérées du "Trou Brouly". A l'avant-plan, *Juncus conglomeratus* et *Molinia coerulea*. A droite, *Pinus silvestris* subspontané. (juillet, photo F. DARIMONT)

Fig. 2 - "Trou Brouly". Tourbière en exploitation. On voit nettement la limite entre la première couche de tourbe, niveau 0, et la base des végétaux.

Fig. 1 - "Trou Brouly„ : Aspect d'une tourbière non altérée: coussins de *Sphagnum* accompagnés de *Eriophorum polystachium* et *Andromeda polifolia*. (juillet, photo F. DARIMONT)

Fig. 2 - Une touffe de *Molinia coerulea* dans une tourbiere drainée ("Trou Brouly„ août. photo P. DEUSE)



*Calluna vulgaris* dans les Fagnes du "Trou Brouly„ (août; photo P. DEUSE).

"Trou Brouly„ Touffe d'*Eriophorum vaginatum*, espece d'une grande activité turfigene. (août, photo P. DEUSE)

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 13, 1949, pp. 35-38.

# SUR LES CARACTÈRES ÉCOLOGIQUES de *MOLINIA COERULEA* MOENCH[1]

par

**Paul DEUSE** Lic. Sc.

Les publications de R. BOUILLENNE ont fait connaître l'altération des tourbières de Haute-Belgique à la suite des plantations de résineux [2] et ont attiré l'attention sur le rôle considérable joué par la graminée ***Molinia coerulea*** MOENCH dans le processus d'altération.

Les tourbières du plateau de la Baraque-Michel ont été en grande partie plantées d'Epicéas. Cette espèce exigeant un assèchement considérable du sol, un système de drainage suivant la plus grande pente a été pratiqué ; il a comme conséquence actuelle une modification complète de la tourbe et de la couverture végétale : toutes les associations caractéristiques des tourbières disparaissent pour faire place à un facies de prairie dont la plante exclusive est ***Molinia coerulea*** MOENCH.

Devant l'importance prise par ***Molinia,*** nous nous sommes attaché à l'étude de ses caractères morphologiques et écologiques. Cette graminée forme des touradons qui atteignent jusqu'à 50 centimètres de haut (Pl. 9 fig. 1 et 2). Ces touradons constituent de véritables buttes dans lesquelles la marche est difficile et fatigante et que le feu entame avec peine. Nous en avons eu la preuve lors du grand incendie de 1947 : quelques jours après le passage du feu, on pouvait voir certaines touffes, attaquées partiellement et noircies en surface, bourgeonner et verdir.

---

[1] Présenté à la séance du 29 novembre 1949 de la Société Botanique de Liège.

[2] Voir notamment : R. BOUILLENNE. — Altérations dans les tourbières de Haute-Belgique en rapport avec les plantations de résineux, C. R. 63me Session Liège 1939 A. F. A. S., Paris et Liège, 1941, pp. 911-917.

Les touradons de *Molinia* sont constitués par les tiges serrées les unes contre les autres et recouvertes par les feuilles séchées des années précédentes. Ces tiges persistent très longtemps, forment un réseau inextricable et donnent aux touffes leur grande résistance.

Les Molinies ont un pouvoir de bourgeonnement très marqué : c'est ainsi que s'accroissent les touffes. Ces bourgeons se développent de manière curieuse : 6 à 7 entrenœuds courts se forment ; chaque nœud correspondant porte une écaille ou une feuille réduite à sa gaine et un bourgeon.

L'entrenœud suivant est tout différent : il s'allonge fortement et s'épaissit à la base ; il prend la forme d'une bouteille. Le nœud correspondant porte une feuille complètement développée et un bourgeon. Cette tige épaissie est étroitement enserrée dans les feuilles des nœuds précédents.

Il se forme encore trois entrenœuds très courts qui portent chacun une feuille complète et un bourgeon, puis l'axe florifère. La figure 1 de la planche 10 montre cette disposition.

Chacune de ces jeunes pousses s'enracine : trois racines apparaissent généralement ; elles se forment toutes les trois sur le même entrenœud qu'elles entourent à la manière d'une couronne ; ces boutures restent toujours en contact avec la tige de l'année précédente (Pl. 10 fig. 2). Dans toutes les plantes que nous avons examinées, l'entrenœud sur lequel prennent naissance les trois racines est le second sous le renflement. Ces racines s'accroissent, se frayent un chemin au travers du touradon et atteignent la tourbe ; certaines d'entre-elles acquièrent une grande longueur, jusqu'à soixante centimètres.

Les feuilles et l'axe florifères fanent pendant l'hiver et retombent contre le touradon. Seules les tiges végétatives demeurent ; elles forment des espèces de rhizomes enchevêtrés les uns dans les autres.

Dans l'ensemble des bourgeons formés chaque année par chaque tige, quelques-uns seulement, dans des conditions normales, se développent à leur tour de la manière qui a été expliquée plus haut. Nous avons observé que seuls les deux ou trois bourgeons situés entre la partie renflée de la tige et les racines se mettent à pousser au printemps.

Par ce mécanisme, les tiges se forment chaque année un peu plus haut dans le touradon. On peut comprendre dès lors que des

Fig. 1 - Touradons de *Molinia coerulea* MOENCH, dans une tourbière altérée. (Fagne Wallonne, mars 1948).

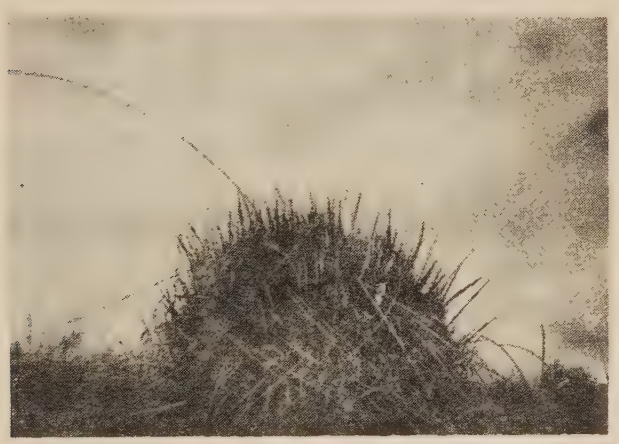


Fig. 2 - Un touradon isolé. (Fagne du Mont-Rigi, juin 1948).

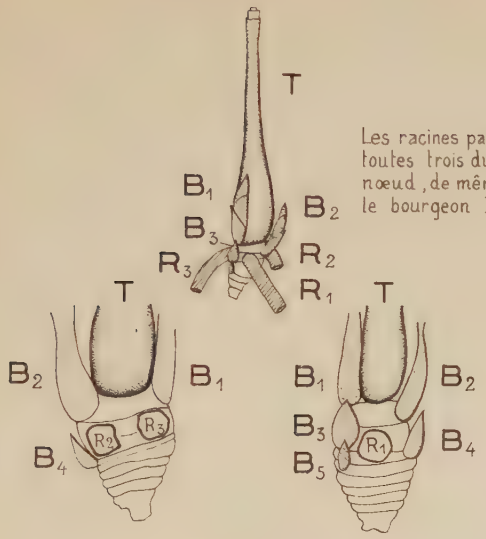



fig. 1

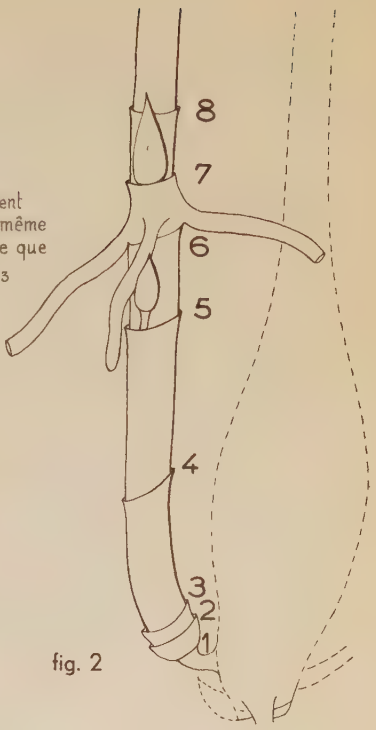
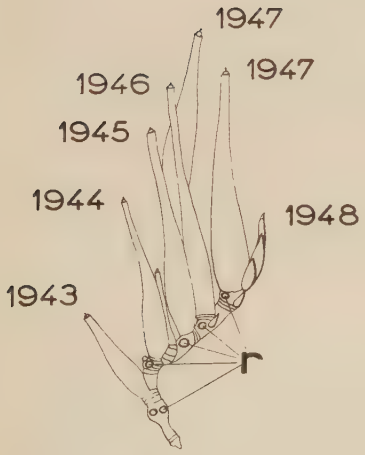



fig. 2



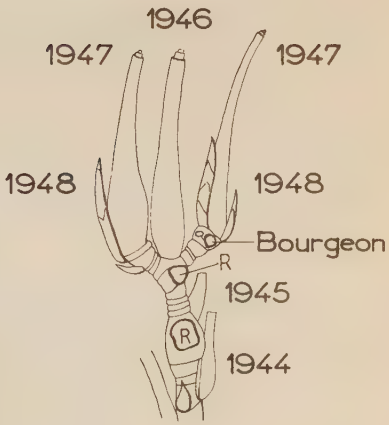




fig. 3

Molinia coerulea MOENCH : Formation du touradon

touradons de hauteur considérable puissent se former dans un temps relativement court. La figure 3 de la planche 10 montre que par un simple bourgeonnement, les mottes peuvent s'élever de quelques centimètres par an.

Les bourgeons qui se développent sur les bords des touffes ont des entrenœuds beaucoup plus longs que ceux des tiges centrales, ce qui leur permet d'avoir leur sommet au même niveau et d'accroître les touffes en largeur.

*Molinia* se développe sous cette forme de touradons dans toutes les fagnes assainies en vue des plantations, là où les drains ont modifié l'équilibre naturel des tourbières et là où la nappe aquifère superficielle a été entamée et vidée.

Sur la pente d'une tourbière, lorsqu'un drain est creusé non pas dans le sens de la plus grande pente, mais obliquement à celle-ci, on remarque une nette différence dans la composition floristique entre les parties supérieure et inférieure du drain. Alors qu'au-dessus, là où l'eau passe abondamment pour se déverser dans le drain, peu de *Molinia* apparaissent dans un *Callunetum* bien typique, plus bas, par contre, la végétation est entièrement composée de *Molinia*. Le fossé profond de 30 à 40 centimètres récolte toute l'eau venant du haut de la tourbière et la conduit dans son entièreté par voie directe et immédiate à la rivière, d'où l'installation plus dense de *Molinia*.

Ce facies ne doit pas être confondu avec le *Molinietum coeruleae* Koch, qui est une association de prairie mouilleuse basicline et dans laquelle *Molinia* n'est nullement exclusif et ne se comporte morphologiquement pas de la même manière.

Le facies à *Molinia* des Fagnes est caractérisé par une abondance extraordinaire de *Molinia*. Cette plante, par sa croissance en touradons, étouffe toute autre végétation et finit par devenir exclusive.

Nous avons rassemblé en un tableau quelques relevés faits par nous, dans trois Fagnes du Haut-Plateau ; chaque relevé correspond à une surface de 1 mètre carré prise au hasard dans ces facies.

Les relevés 1 à 5 ont été pris dans la Fagne du Mont-Rigi, en un endroit où les drains sont très nombreux et creusés dans le sens de la plus grande pente. Les colonnes 6 à 9 correspondent à d'autres endroits moins profondément drainés de la même fagne.

Relevé dans les facies à *Molinia* du plateau de la Baraque-Michel

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Molinia coerulea | 5.5 | 5.4 | 5.5 | 4.4 | 4.4 | 4.4 | 5.4 | 5.4 | 3.2 | 3.3 | 4.4 | 4.3 | 4.4 | 4.3 | 2.3 |
| Potentilla tormentilla | 1.1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1.1 | — | — |
| Deschampsia flexuosa | — | 1.1 | — | — | — | — | — | 2.2 | — | 4.3 | 2.1 | 4.3 | 2.3 | 3.3 | 2.3 |
| Polytrichum commune | — | — | — | — | 3.4 | 1.2 | — | — | 1.2 | — | — | — | 2.1 | — | — |
| Eriophorum vaginatum | — | — | — | — | — | 3.2 | 3.2 | — | 4.4 | 1.3 | 1.3 | — | — | — | — |
| Trientalis europaea | — | — | — | — | — | — | 1.1 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Calluna vulgaris | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1.3 | — | 3.3 |

Les numéros 10 à 12 sont des relevés des parties drainées de la Fagne Wallonne.

Les relevés 13 à 15 ont été faits dans une partie drainée de la Fagne des Wez.

Les touffes de ***Molinia*** sont espacées les unes des autres de 30 à 40 centimètres. Les creux ainsi formés ne portent aucune végétation ; ils sont tapissés par les feuilles fanées de ***Molinia***.

Lorsque l'eau y demeure, des Sphaignes se réinstallent rapidement et, dans des cas qui heureusement ne sont pas trop rares, font régresser le facies à ***Molinia***.

UNIVERSITÉ DE LIÈGE

Institut de Botanique

*Station scientifique du Mont-Rigi*

# APERÇU DE LA VÉGÉTATION DES ROCHES NOIRES A COMBLAIN-AU-PONT

par **P. DEUSE, H. HENIN** et **G. SEPULCHRE.**

Les Roches Noires sont connues de tous ceux qui parcourent la vallée de l'Ourthe. Les botanistes particulièrement savent que ce terroir a gardé toute sa sauvagerie et sa végétation naturelle primitive. C'est à cet endroit qu'en 1823, Barthélemy DUMORTIER trouva *Festuca unilateralis L.*, station unique en Belgique.

Les Roches Noires forment une toile de fond au nord du village de Comblain-au-Pont. Elles sont actuellement propriété de l'association « Ardenne et Gaume ».

Ces roches sont un magnifique spécimen de calcaire dolomitique de l'étage inférieur du Viséen — calcaire carbonifère — . La présence de *cherts* ou silex noirs dans la masse dolomitique donne aux roches leur couleur et les fait contraster nettement avec les roches calcareuses blanches de la région, telles les Tartines.

Ces falaises s'élèvent en retrait de la vallée actuelle. A leur pied s'étendent des prairies alluviales occupées par des cultures et des pâtures. Dans les temps anciens, l'Ourthe coulait au pied des Roches Noires ; elle a abandonné ce lit pour celui qu'elle occupe aujourd'hui par le creusement d'une grotte dont le toit s'est effondré et dont les restes furent érodés et emportés par les eaux de la rivière.

L'érosion a modelé ces roches : des fentes, des blocs relevés et nettement détachés, d'étroits replats le montrent à suffisance.

Orientées au midi, elles reçoivent la lumière et la chaleur au maximum ; le réveil de la végétation est très précoce et par les étés secs et chauds, elles offrent aux regards un aspect nu et aride. La végétation y est xérophile et xérothermique.

L'ensemble de la végétation appartient au district calcaire. Nous avons divisé ce terroir en cinq zones distinctes :

1. le massif rocheux.
2. le plateau nord.
3. les éboulis.
4. les dépôts alluviaux de la base.
5. le versant ouest.

Le plateau situé au sommet des roches est couvert d'une pelouse calcaire appar-

Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique, Tome 82, p. 51 (1949).

tenant à l'association *Mesobrometum erecti*. Elle est limitée au nord par des champs cultivés.

A l'Est des pentes moins abruptes portent une futaie de chênes *Querceto Carpinetum*. Cette association se retrouve dans les prairies alluviales de la base du rocher mais très limitée en étendue.

A l'Ouest, un taillis très dense recouvre la prairie calcaire.

* * *

**1. Le massif rocheux.**

Un petit nombre d'espèces seulement s'y rencontrent. Parmi elles citons une remarquable et intéressante crucifère *Biscutella laevigata L.*, la Lunetière, qui colonise les moindres creux de la falaise : c'est à notre connaissance une des plus belles stations de cette espèce à la fois rare et jolie.

Les espèces rupicoles caractéristiques s'y retrouvent : *Ceterach officinarum D. C., Asplenium Ruta-muraria, L. Asplenium Trichomanes L.* En outre nous y avons remarqué : *Sesleria coerulea Ard., Festuca ovina L. var. glauca, Hippocrepis comosa L. Seseli libanotis K., Melica ciliata L. Campanula rotundifolia L.* et accidentellement d'autres espèces du plateau et des versants.

Quelques pins plantés garnissent la crête des rochers.

**2. Le Plateau Nord.**

Il s'étend entre les rochers et la route de Comblain à Mont. Il est couvert d'une prairie à *Bromus erectus Huds.* On y retrouve les espèces caractéristiques de l'association *Mesobrometum erecti Scherrer* :

*Festuca ovina L., Koeleria albescens var. glauca D. C., Agrostis vulgaris Wit., Koeleria gracilis Pesr. var. typica Dom., forme violaceus Uechte., Arabis hirsuta Scop., Briza media L., Achillea millefolium L. var. rosaeflorum, Carduus nutans L., Centaurea jacea L., Carex glauca Murr., Satureia acinos Schub., Cerastium pumilum Curt., Cerastium arvense L., Cirsium acaule Weber., Cirsium lanceolatum Hill., Echium vulgare L., Erigeron acer L., Melilotus officinalis Med., Arenaria serpyllifolia L., Potentilla sterilis Gar., Melica ciliata L., Agropyrum caninum T. Beauv., Galium verum L., Hippocrepis comosa L., Lepidium campestre R. Br., Medicago sativa L., Potentilla verna L., Hieracium pilosella L., Onobrychis viciaefolia Scop., Origanum vulgare L., Reseda luteola L., Rumex crispus L., Sedum acre L., Sedum album L., Sanguisorba minor Scop., Seseli libanotis Koch., Senecio erucifolius L., Trifolium filiforme subsp. dubium Gams., Teucrium scorodonia L., Verbena officinalis L., Plantago media L., Cirsium arvense Desf., Erophila verna Meyer., Medicago lupulina L.*

En un endroit plus accidenté : *Aquilegia vulgaris L. . Campanula persicifolia L., Thymus serpyllum L., Chaerophyllum silvestre Schinz et Thell.* et *Teucrium chamaedrys L.*

Quelques arbustes parsèment cette prairie : *Cornus sanguinea L., Rhamnus cathartica L.* ainsi que le rare *Cotoneaster integerrima Medik.*

Le long du chemin de Mont, on remarque *Stellaria graminea L., Vicia sativa L., V. sat. subsp. angustifolia Gaud.*

### 3. Les éboulis.

La même association à base de *Bromus erectus Huds.* s'y retrouve, mais elle est fortement envahie par des espèces thérophytes et phanérophytes : elle forme une transition entre le *Brometum* et le *Querceto Carpinetum.*

Nous avons pu noter les espèces suivantes :

*Arabis hirsuta Scop., Arenaria serpyllifolia L., Anthyllis Vulneraria L., Bromus erectus Huds, Arrhenaterum elatius Mert. et Koch ; Festuca ovina L., Sesleria coerulea Ard., Bellis perennis L., Euphrasia stricta Host., Orchis mascula L., Centaurea Scabiosa L., Convolvulus arvensis L., Dryopteris Linneana Christ., Verbascum Lychnitis L., Moehringia trinervia Clair., Campanula persicifolia L., Campanula trachelium L., Carlina vulgaris L., Centaurea jacea L., Crepis biennis L., Dactylis glomerata L., Fragaria vesca L., Galeopsis ladanum L., Galium asperum Shreb., Galium cruciata Scop., Helianthemum nummularium Mill., Helleborus foetidus L., Hieracium murorum L., Holcus lanatus L., Inula conyza D. C., Knautia arvensis Coult., Lotus corniculatus L., Melica ciliata L., Leontodon hispidus L., Picris hieracioides L., Anemone nemorosa L., Ranunculus repens L., Rumex acetosa L., Ranunculus acer L., Silene nutans L., Alliaria officinalis Andr., Teucrium botrys L., Verbascum Thapsus L., Vincetoxicum officinale Moench., Crepis foetida L.*

Parmi la flore arbustive domine *Prunus spinosa L.*, les autres sont : *Cornus sanguinea L., Rhamnus cathartica L., Rosa canina L., Rosa rubiginosa L., Quercus sessilis Ehr., Populus alba L., Cotoneaster integerrima Medil.*, et chevauchant parmi tous, *Clematis vitalba L.*

### 4. Dépôts alluviaux de la base des roches.

Ces terrains se sont révélés comme les plus riches en espèces différentes. Les relevés montrent que l'association colonisatrice est un *Querceto Carpinetum* bien typique à sous-association à *Primula* semblable à ceux décrits par Louis et Lebrun (1).

Ici les arbres et les arbustes dominent. Ce sont :

*Acer campestre L., Acer pseudoplatanus L., Alnus glutinosa Gaertn., Betula verrucosa Ehrh., Betula pubescens Ehrh., Carpinus Betulus L., Clematis vitalba L., Corylus avellana L., Cornus mas L., Cornus sanguinea L., Evonymus europaeus L., Fagus silvatica L., Fraxinus elatior L., Ilex aquifolium L., Lonicera periclymenum L., Mespilus monogyna All., Populus virginiana Foug., Prunus spinosa L., Prunus avium L., Quercus Robur L., Quercus sessilis Ehrh., Rhamnus cathartica L., Ribes grossularia L., Robinia pseudacacia L., Salix caprea L., Salix cinerea L., Rosa canina L., Rosa arvensis Huds., Pirus aucuparia Ehrh., Viburnum opulus L., Juniperus communis L.*

---

(1) J. Louis et J. Lebrun, *Premier aperçu sur les groupements végétaux en Belgique* ; Bull. Inst. Agr. Gembloux : XI ; 1942.

En sous-bois et dans les clairières nous avons relevé de nombreuses espèces chamaephytes et hémicryptophytes et quelques géophytes bulbeuses ainsi que de très rares thérophytes :

*Anemone nemorosa L., Moehringia trinervia Clairv., Arum maculatum L., Dryopteris filix mas Scott., Actaea spicata L., Arctium minus Bernh., Brachypodium silvaticum Roem et Schult., Brunella vulgaris L., Bryonia dioica Jacq., Stachys officinalis Trèv., Bromus hordeaceus L., Bromus sterilis L., Carex contigua Hoppe., Carex caryophyllea La Tour, Carex silvatica Huds., Chaerophyllum temulum L., Chrysanthemum leucanthemum L., Cirsium palustre Scop., Cirsium arvense Scop., Cirsium lanceolatum Hill., Colchicum autumnale L., Crepis biennis L., Crepis capillaris Wall., Cerastium caespitosum Gilib., Dactylis glomerata L., Daucus carota L., Epilobium angustifolium L., Epilobium montanum L., Eupatorium cannabinum L., Euphorbia amygdaloides L., Fragaria vesca L., Galium mollugo L., Galium cruciata Scop., Galium aparine L., Galium verum L., Genista tinctoria L., Geranium columbinum L., Geranium robertianum L., Geranium dissectum L., Geum urbanum L., Helianthemum nummularium Mill., Helleborus foetidus L., Hieracium murorum L., Hieracium Lachenalii Gmel., Hieracium laevigatum Willd., Hieracium Sabaudum L., Holcus mollis L., Holcus lanatus L., Humulus lupulus L., Hypericum perforatum L., Lathyrus pratensis L., Linaria vulgaris Mill., Mycelis muralis Reich., Lolium perenne L., Luzula silvatica Gaud., Melica uniflora Retz., Myosotis arvensis Hill., Polygonatum multiflorum All., Poa nemoralis L., Poa compressa L., Poa pratensis L., Poa trivialis L., Polygonum convolvulus L., Primula elatior Shreb., Potentilla anserina L., Potentilla reptans L., Primula officinalis Hill., Pulmonaria angustifolia L. subsp. tuberosa Gams, Ranunculus acer L., Ranunculus bulbosus L., Rumex acetosa L., Rumex crispus L., Rumex obtusifolius L., Sieglingia decumbens L., Succisa pratensis Moench., Scleropoa rigida Grisch., Senecio nemorensis L., Solanum dulcamara L., Sonchus arvensis L., Sonchus asper Hill., Silene venosa Ascher., Filipendula ulmaria Maxim., Taraxacum officinale Web., Teucrium scorodonia L., Tussilago farfara L., Lamium galeobdolon Crantz., Scrophularia nodosa L., Phleum pratense L., Ononis spinosa L., Trifolium arvense L., Trifolium repens L., Valeriana officinalis K., Veronica chamaedrys L., Vicia sepium L., Viola hirta L., Viola silvestris Lam., Viola riviniana Reich., Vicia cracca L., Verbascum thapsus L., Cardamine pratensis L., Cardamine hirsuta L., Lapsana communis L., Urtica dioica L.*

Le ravin qui dévale jusqu'à la base des roches est entièrement tapissé par *Hedera helix L.*

Quelques orchidées intéressantes ont été rencontrées *Platanthera chlorantha Reichb. Coeloglossum viride Hartm., Ophrys apifera Hud., Ophrys muscifera Huds.*

**5. Le versant ouest.**

Deux associations se disputent ce versant : le sommet est couvert par la prairie calcaire à *Bromus erectus Huds.*, la base par l'association arbustive du *Querceto Carpinetum.* La partie moyenne montre un envahissement progressif de la prairie par les plantes arbustives : *Prunus spinosa L., Rosa sp., Betula pubescens Ehrh., Carpinus Betulus L.*, et même *Quercus sessilis Ehrh.*

1. — Vue générale des Roches Noires à Comblain au Pont, photo R. Sauveur.

Cette succession de végétation est typique et classique.

Elle a été bien décrite par M. Nihoul dans l'étude qu'il a faite des terrains calcaires de Belgique (1).

A l'ombre de ces buissons, nous avons remarqué une belle colonie de *Platanthera chlorantha Reichf.*

Les lisières et les clairières sont colonisées par :

*Sarothamnus scoparius Wimm., Arrhenatherum elatius Mert. et Koch., Linum catharticum L., Polygala vulgaris L., Myosotis arvensis Hill., Centaurea Scabiosa L., C. jacea L., Vicia sepium L., Lathyrus montanus Bernh., Lolium perenne L., Agrimonia eupatoria L., Trisetum flavescens T., Inula conyza D. C., Silene nutans L., Ononis repens L., Scabiosa columbaria L., Knautia arvensis Coult., Ranunculus repens L., Plantago major L., P. lanceolata L., Myosotis collina Reth., Senecio jacobaea L., Galium div. sp., Dactylis glomerata L., Verbascum Lychnitis L., Viola hirta L., Cirsium lanceolatum Scop...*

Plusieurs espèces de *Rubus* croissent dans les sous-bois, à la lisière des taillis et dans les buissons de la bordure du chemin de Mont. Nous avons pu identifier : *Rubus idaeus L., R. caesius L., R. suberectus And., R. nessensis W., R. discolor W., R. Sprengelii Weihe, R. macrophyllus Weihe et Nees.* et *R. villicaulis Koehl.*

Nous signalons la présence en haut de ce versant d'une importante station de *Cirsium arvense Scop. var. mite Wim.*

* * *

Nous croirions être incomplets si, à la suite de ces descriptions, nous ne mentionnions pas les quelques espèces peu communes rencontrées dans les environs immédiats des Roches Noires :

— à l'Ouest, dans les éboulis de la carrière voisine : *Ceterach officinarum D. C.*

— sur le plateau voisin une station de *Goodyera repens R. Br.* Cette dernière station nous a paru être en voie de régression.

— sur les pentes de ce plateau, *Epipactis atropurpurea R. ; Crepis vesicaria L. subsp. taraxacifolia Thell., Juniperus communis L.* ainsi que *Orlaya grandiflora Hoffm.*

— sur le plateau boisé à l'est des Roches Noires nous avons pu noter : *Tilia cordata Mill., Viburnum lantana L.* et *Berberis aquifolia Pur.* La naturalisation de cette dernière plante apparaît comme bien établie. Parmi les espèces herbacées, en sous-bois : *Cephalanthera alba Simonk., Neottia nidus-avis L. C.* et dans les clairières de nombreux plants de *Stachys alpinus L.*

Ce massif des Roches Noires nous a paru intéressant à étudier, car il offre au botaniste sur une superficie très réduite bon nombre des associations caractéristiques des terrains calcaires depuis la végétation des rochers et des prairies jusqu'à celle du climax : forêt de chênes.

Malgré toutes nos recherches, les renseignements précieux de M. A. Marechal et l'aide de M. Lahaye de Comblain-au-Pont, il ne nous a pas été possible de retrouver la station de *Festuca unilateralis* découverte jadis par Dumortier.

Université de Liège. Institut de Botanique.

(1) M. Nihoul : contribution à l'étude phytosociologique des terrains calcaires de Belgique *Bull. Soc. R. Bot. Belg.* : 67 ; 1935.

*Extrait de* **LEJEUNIA, Revue de Botanique.**
Tome 12, 1948, pp. 71-74.

# DÉCOUVERTE DE *LYCOPODIUM ALPINUM* L. AU PLATEAU DE LA BARAQUE-MICHEL

par

**Arthur MARÉCHAL.**

M. Maurice Laloux, au cours d'une excursion à partir du laboratoire des Hautes-Fagnes dépendant de l'Université de Liège, a découvert un Lycopode extrêmement intéressant.

La détermination de ce Lycopode ne fait pas de doute, il s'agit de *Lycopodium alpinum* L.

M. Laloux m'a prié de vouloir bien établir la détermination correcte et de rédiger la présente note.

* * *

Dans le fascicule I, p. 26, de ses « Notes sur quelques plantes rares ou critiques de la Belgique », François Crépin annonçait, en 1859, la découverte de *Lycopodium alpinum* L. dans les « bruyères entre Odeigne et les baraques de Fraiture (Liège), à 650 m. d'altitude » (1).

Et Crépin ajoute :

« C'est le 30 août 1854, sur la fin d'une longue herborisation solitaire à travers un des plateaux les plus élevés et les plus sauvages de l'Ardenne, que je découvris ce rare Lycopode, nouvelle espèce pour notre flore et dont j'étais loin de soupçonner l'existence en Belgique. »

Depuis cette époque déjà lointaine de la découverte de ce Lycopode, plusieurs excursions collectives et personnelles furent entreprises dans le but d'observer à nouveau cette espèce dans la station signalée : toutes ces recherches furent vaines.

Le 16 juin 1890, M. A. Mansion, notre regretté confrère, en compagnie de plusieurs amis et à la faveur d'un fauchage de bruyères qui mettait le sol à nu, eut la chance de le retrouver à l'endroit précité, mais en un très petit nombre de pieds, bien malingres.

En 1894, la plante fut observée à nouveau par M. Adam, mais non fructifiée. Le fauchage des bruyères continuait.

(1) La mention « Liège » résulte manifestement d'une erreur de François Crépin, l'endroit en question est situé dans la province de Luxembourg.

Je fis également dans cette région, plusieurs excursions et tout particulièrement en 1912 et 1926, mais sans résultat.

Maintenant, en lieu et place de la plus grande partie de la bruyère du plateau, croît une vaste pineraie épaisse et vigoureuse : fauchage, écobuage et plantation de résineux ont détruit la station de ce rare Lycopode.

Mais je ne désespérais cependant pas de le retrouver un jour, soit dans les bruyères du Fond de Bihain, près de la Baraque-Fraiture, soit plus particulièrement dans celles du plateau des Hautes-Fagnes de la Baraque-Michel et du Mont-Rigi : ces régions offrant toutes les conditions écologiques et biologiques nécessaires à la présence et à la croissance de cette espèce.

A chaque occasion propice, je fis part de mes considérations écologiques aux confrères explorant ces contrées et ce, pour que ces considérations puissent leur servir de directives dans leur recherche de ce Lycopode : sa présence dans le *Callunetum*, la difficulté de l'observer à distance par suite d'un certain mimétisme avec la bruyère, surtout quand celle-ci est jeune (teinte et aspect du feuillage) et quand *Lycopodium alpinum* n'est pas encore arrivé à fructification.

Mon espoir n'a pas été déçu !

Le 21 septembre 1948, M. M. Laloux, notre ami et confrère, un fervent admirateur des beautés et richesses naturelles de la Fagne, s'en retournait à la tombée du jour, à la Station scientifique de l'Université de Liège en compagnie de Monsieur le Professeur Melon, après une longue randonnée dans les bruyères des environs.

« Jetant mes regards sur un coin de bruyères plus vigoureuses que les » voisines, me dit-il, mon attention fut attirée par de beaux pieds de *Lyco-* » *podium clavatum*, mais à côté, je distinguai, rampant à fleur de terre, un » Lycopode dont les formes se présentaient sous un aspect bien différent de » celui des autres espèces que j'avais observées jusqu'à présent. »

En possession des échantillons litigieux, je n'eus pas de peine à constater que l'espèce rapportée était bien *Lycopodium alpinum* L.

Dans la suite et particulièrement le 21 novembre, MM. Laloux et Deuse se sont rendus à la station précitée pour examiner son étendue et son importance.

Elle occupe dix mètres carrés environ ; les pieds y sont nombreux, vigoureux et admirablement fructifiés. De plus, une nouvelle habitation existe un peu plus loin et les conditions phytostatiques y sont les mêmes.

*Lycopodium alpinum* L. est une espèce nettement subalpine, croissant entre 1.300 et 2.400 m. d'altitude suivant les massifs et leur expo-

*LYCOPODIUM ALPINUM* L.

sition (1). Il est calcifuge et se rencontre dans la ceinture de broussailles, faisant suite à celle des conifères. Souvent observé dans les pentes des montagnes sèches et des prairies siliceuses, en compagnie de *Calluna vulgaris*, de *Nardus stricta* et de son congénère *Lycopodium clavatum*.

En France, sa distribution générale est : Hautes-Vosges, Alpes, Ardèche, Auvergne, Haute-Loire, Pyrénées.

Je l'ai reçu du Pays de Galles.

En Europe centrale, il croît en Allemagne, Autriche, Tchéco-Slovaquie et aussi dans l'Apennin et en Suisse.

Enfin, on le signale en Europe et Asie septentrionales (Sibérie), en Asie mineure et en Amérique boréale.

Mais dans toutes ces contrées, la plante envisagée est toujours citée comme une espèce rare et même très rare.

* * *

Cette découverte de M. M. Laloux enrichit d'une unité bien rare la couronne floristique subalpine des Hautes-Fagnes.

Puisse-t-on être aussi heureux, dans les recherches ultérieures, pour retrouver deux autres espèces rares, observées autrefois dans la région des Hautes-Fagnes, mais non revues depuis la date de leur découverte : *Carex ericetorum* Poll. (clairière dans l'Hertogenwald, commune de Membach, vu en juin 1864, par Armand Thielens) et *Selaginella helvetica* Link. (Entre Eupen et Malmédy, observée en juillet 1869 par Jean Chalon).

UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Institut Botanique
*Station scientifique du Mont-Rigi*

(1) Les hauts plateaux de la Baraque-Michel et du Mont-Rigi correspondent par leur rude climat hivernal, à une montagne d'environ 1.200 m. d'altitude (Léon Frédéricq).

## INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. — Crépin F. — Notes sur quelques plantes rares ou critiques de la Belgique, fasc. 1. *Bull. Acad. roy. Belg.*, 1859.

2. — De Wildeman E. et Durand Th. — Prodrome de la Flore Belge, t. II, Bruxelles 1898, p. 526.

3. — Mansion A. — Le Lycopodium alpinum retrouvé en Belgique. *Bull. Soc. roy. Bot. Belg.*, t. 29, 2me partie, pp. 118-119.

4. — Rouy G. — Flore de France, t. XIV, Paris, 1913, p. 489.

5. — Hegi G. — Illustrierte Flora von Mitteleuropa, t. 1, München, 1906, p. 69.

# Que devient le monde naturel ?

par R. BOUILLENNE.

# Que devient le monde naturel ?

par R. Bouillenne.

Lorsque la fatigue vient dans l'accomplissement des tâches quotidiennes, il arrive que nous évoquions le charme des lieux champêtres où nous avons passé des heures paisibles et que nous aspirions à quelques jours de repos à la campagne. Il est remarquable d'observer combien un séjour au grand air satisfait notre besoin d'évasion et de détente nerveuse. Nous prenons plaisir à observer les travaux saisonniers qui se déroulent dans les paysages ruraux où la vie du village associe dans un labeur utile et beau les hommes, le bétail, et les plantes cultivées. Notre mémoire garde des souvenirs que tant de poètes ont évoqués, tels la chanson d'une rivière aux eaux cristallines, le spectacle d'un troupeau rentrant à l'étable, la résonnance de l'angélus par-dessus les sillons.

Ce goût de la nature existe en chacun de nous ; nous en jouissons à des degrés divers : les uns se plongent dans une ambiance campagnarde tout imprégnée des choses de la ferme et de la culture ; les autres préfèrent un dépaysement plus net, loin des hommes, vers des horizons sans clocher ; ils se réconfortent en parcourant les bois d'un pas ferme ou bien en guettant le gibier, l'arme à la main. Que l'on considère le citadin qui s'isole de la fièvre d'une grande ville sous les ombrages d'un jardin public, ou le promeneur sac au dos qui s'en va par monts et par vaux, il n'est pas possible de nier que ce goût de la nature procure des satisfactions réconfortantes.

Mais, actuellement, la joie que l'on éprouve n'est pas sans mélange, car elle s'accompagne du regret de constater combien vite s'abiment des paysages appréciés et souvent visités.

Cette altération des paysages de notre pays a provoqué partout une salutaire réaction. La défense des sites a mobilisé un grand nombre de personnes dévouées au bien public. En outre, dès 1912, le Groupement prenait la décision de créer à côté de la Commission Royale des Monuments qui existait depuis 1835, une Commission des Sites. Celle-ci eût la mission de proposer au Gouvernement le « Classement » des sites intéressants et depuis des années elle accomplit avec succès un travail important et nécessaire. Celui-ci fut complété par l'action vigilante de sociétés diverses qui se sont attachées très utilement à ralentir l'enlaidissement et la banalisation de tout le territoire où depuis tant de siècles une population inlassable impose les extensions de son habitat surpeuplé et une exploitation de plus en plus large des ressources naturelles.

On peut dire que la plupart des paysages n'ont pas échappé à l'emprise actuelle ou passée qui résulte de la présence et des activités de nos compatriotes. Beaucoup d'entre nous ne peuvent pas se rendre compte de l'ampleur de ces altérations et n'imaginent pas que, dans maints endroits, même d'aspect intact, la partie s'est jouée déjà : les éléments de la nature sont en déséquilibre et se présentent comme le tronc d'un bouleau pourri dont il ne reste plus superficiellement que l'écorce blanche. Tout

ce qu'on visite à la campagne, c'est l'homme qui l'a fait ou bien qui l'a permis. Même les forêts sont artificielles ; elles sont plantées et maintenues grâce à des techniques appropriées et délicates ; elles sont abattues à la suite d'une décision humaine qui cède le plus souvent devant la nécessité d'un rendement économique. Il n'y a guère d'arbres dont l'existence ne soit pas sujette aux caprices d'un propriétaire.

Il n'en reste pas moins vrai que tels qu'ils sont, certains aspects du pays sont encore agréables à parcourir et expriment, par endroit en Ardenne par exemple, une forme d'équilibre relativement stable entre le milieu et le cultivateur. Mais cette situation ne se présente que là où l'agriculteur moderne et l'industrie n'ont pas brutalisé les éléments de la Nature. Partout ailleurs, les défenseurs des sites ont raison de s'alarmer lorsque les dégâts atteignent l'un ou l'autre de ces paysages rares et précieux.

⁂

Mais si nous devions préciser notre pensée nous dirions qu'il y a lieu de distinguer entre la défense des sites et la protection de certains territoires où les éléments de la nature se trouvent présents sous un aspect inaltéré et où certaines recherches scientifiques importantes doivent pouvoir être entreprises. Ce n'est pas dans la campagne cultivée, ni dans les bois plantés que ces recherches donneront les résultats que l'on attend.

La protection de la nature en effet s'adresse à d'autres problèmes : elle s'intéresse avant tout à la vie vraiment sauvage pour laquelle le jeu libre des forces naturelles se déroule sans aucune intervention humaine. Les bêtes, les plantes, les eaux, le sol et le climat subissent les lois primitives. L'homme moderne se comporte vis-à-vis de celles-ci comme un élément disturbateur. Il a commencé ce rôle depuis longtemps lorsque muni de moyens d'action de plus en plus agressifs, il a, tel un intrus, pénétré parmi les biotopes complexes.

Dans notre pays, il n'y a plus guère d'endroits où l'on puisse encore observer de tels complexes. Par conséquent peu d'entre nous sont préparés à comprendre de quoi il est question. Mais, pour autant que l'on ait l'heureuse fortune de parcourir quelques territoires intacts, les impressions que l'on ressent deviennent clairement explicatives du problème en jeu et, bien plus, elles produisent chez le spectateur qui réussit à s'imprégner de l'ambiance une émotion forte qui s'apparente à celle que déterminent les chefs d'œuvre les plus parfaits.

Elle évoque les émotions inoubliables qui ont récompensé les aventuriers des temps héroïques, les trappeurs d'autrefois, et les pionniers d'un Far-West disparu.

Ceux qui ont eu la révélation de ce que peut être la nature en dehors de l'homme en restent marqués jusqu'à la fin de nos jours.

Cette révélation est faite de puissance et de vie ; il n'est pas possible de parler de solitude à moins que l'on ne vise l'absence d'êtres humains ; au contraire, tout est animé de l'activité d'innombrables organismes animaux se déroulant parmi les milliers d'espèces du monde végétal, support immobile de toute nourriture et stabilisateur des sols et des climats. Tout observateur est frappé par l'entremêlement d'équilibres instables, à volets multiples dont les mystères sont loin d'avoir été décelés partout.

Que reste-t-il des complexes naturels qui ont caractérisé notre pays ?

Les forêts anciennes, venues du fond des âges, ont disparu complètement aux environs de 1850. Elles ont fait place à des cultures d'arbres ; les rivières, la faune et la flore indigènes sont modifiées dans leur nature et leur composition. Où sont les grandes forêts ménapiennes, entrecoupées de landes et de marécages qui couvraient les plaines des Flandres et de Campine ?... et la forêt charbonnière puissante et dense sur les limons fertiles de la Hesbaye, et les splendides frondaisons des forêts d'Ardenne que remplacent tant de peuplements artificiels de résineux ?

Le sol est largement couvert de moissons, de prairies, de cultures diverses, d'habitations. Aujourd'hui, il faut chercher beaucoup pour trouver des endroits où la vie sauvage existe encore et où les faciès naturels correspondent aux paysages qui ont imprégné l'âme de nos ancêtres.

*
**

Nous en sommes arrivés au moment décisif dans les rapports entre la population et le territoire : le moment où il n'y a presque plus de sol vierge et où les dernières zônes intactes vont être mises en exploitation.

Est-ce un mal ?

Nour affirmons sans ambages que la dispartition de toutes les zônes intactes et sauvages d'un pays serait fâcheuse. Il existe de nombreuses raisons qui justifient notre point de vue et qui présente le problème sous un jour alarmant. Nous croyons qu'il est important pour nous et notre descendance que soit établi un statut de conservation de certains aspects de nature et même, dans l'état actuel d'altération des complexes naturels, que soit entrepris un essai de reconstitution de ces faciès là où c'est encore techniquement possible.

Les raisons que nous formulons brièvement ici sont d'ordre humain d'abord, d'ordre économique ensuite.

1. — Les premières raisons rencontrent les aspirations des temps modernes et sont comme une réaction contre l'uniformisation des lieux d'existence et l'atmosphère peu hygiénique des villes industrielles. Elles correspondent à de véritables besoins : besoin physiologique de délassement et de paix dans des paysages vivifiants et sauvages, besoin d'ordre intellectuel, désir de dépaysement dans des lieux inaccoutumés et intéressants, où le rôle éducatif de la nature est mis en évidence, besoin scientifique car il est nécessaire de permettre le progrès de nos connaissances sur les phénomènes naturels et sur les êtres vivants « dont l'étude ne peut être complète qu'en y incorporant celle des évolutions et des transformations successives, insaisissables pendant la courte existence d'un même observateur. » (Voir Discours Congrès de Londres 1933).

2. — Les raisons économiques sont encore plus pertinentes que les premières ; elles imposent aux Gouvernements d'intervenir en organisant la protection de la nature, même si les hommes d'aujourd'hui n'en éprouvent aucun besoin et n'en aperçoivent pas la nécessité.

Ce sont des raisons de bonne administration dans les pays dont les autorités prévoient l'avenir. Le maintien de certaines zônes intactes et leur protection sont une sauvegarde contre les conséquences désastreuses de l'occupation complète du sol par les hommes. On constate que ces zônes fonctionnent comme un volant de sûreté bloquant ou ralentissant les dégâts. Les plus importantes, parce qu'elles conditionnent l'habitat humain et la prospérité des industries, sont les conséquences résultant des transformations des sols et du régime des eaux.

C'est, en effet, généralement l'extension des surfaces utilisées par l'agriculture et l'industrie qui provoque des dégradations importantes. N'oublions pas que l'action d'altération des éléments naturels sévit depuis longtemps et que si des dégradations ne sont pas toujours reconnues ou élucidées, elles nous imposent la constatation que certains phénomènes de régression sont irréparables, que les ressources terrestres sont limitées et que leur exploitation sans mesure peut déclancher des catastrophes.

Ce n'est pas ici la place d'exposer de nombreux exemples qui, en Belgique comme dans le reste du monde, se chiffrent par d'énormes pertes d'argent résultant de ruptures d'équilibres naturels, ruptures qui paraissent insignifiantes mais qui font sentir leurs effets à la longue (1).

---

(1) R. Bouillenne. « Ne compromettons pas les équilibres naturels » Vinche, Verviers, 1948.

Peut-être, pourrions-nous simplement retenir le plus récent d'entre eux et qui intéresse les Hautes-Fagnes. Cette région de tourbières a progressivement eté assainie et drainée dans le but d'y implanter des bois artificiels de résineux et aussi de faire produire à un sol qui ne servait à rien, ni à personne, un rendement intéressant. Le programme était légitime et les forestiers qui ont réussi malgré de grandes difficultés techniques à remplacer les tourbières et les landes par des bois d'Epicéas ont montré la qualité de leurs méthodes. Mais, on ne pouvait prévoir que la destruction des tourbières produirait une profonde altération du régime des eaux descendant du Haut-Plateau. Non seulement la régularité des rivières a été altérée, mais aussi la quantité d'eau disponible en a été fortement diminuée de même que la qualité particulière et précieuse des eaux des Fagnes.

Il en résulte que le barrage d'Eupen, presque terminé aujourd'hui, ne va pas pouvoir recueillir des eaux de qualité pour lesquelles il a été décidé il y a environ 15 ans. Un ouvrage de cette importance (environ un milliard de francs) doit pouvoir être exploité avec le maximum de chance et il apparaît menacé par la diminution de la quantité d'eau escomptée et par l'incertitude de pouvoir disposer assurément d'une eau pure qui garde les qualités nécessaires à son utilisation par les industries de la laine et du papier et qui fait, par ailleurs, la renommée d'une ville d'eau comme Spa.

Dans ces conditions, on s'aperçoit du rôle que peuvent jouer les Sciences Naturelles dans l'Economie politique. Il faut de toute urgence arrêter la dégradation des tourbières et même tenter de les reconstituer. Il faut mettre les bassins hydrographiques utiles sous la protection d'un statut spécial. Les dispositions idéales de ce statut sont connues ; elles coïncident avec les réglementations nécessaires pour la Protection de la Nature.

*
**

L'existence et le maintien à l'état naturel de territoires vastes, intéressants et beaux, répond donc, pour les sociétés actuelles, à des besoins légitimes et impérieux. Ces territoires sont strictement indispensables à la continuité des études scientifiques sur les relations biologiques entre les êtres vivants et leur milieu ; ils doivent être maintenus comme des dictionnaires ouverts à nos questions successives ; la diminution des terres vierges et les conséquences pour l'homme de la décadence du règne végétal, de l'altération des sols et des climats sur de vastes régions imposent une intervention coordonnée qui puisse préserver définitivement de toute altération certains endroits choisis spécialement à cet effet.

La plupart des pays civilisés ont ainsi délimité sur leur territoire des espaces relativement vastes dont l'intérêt et la beauté sont remarquables et qui se trouvaient encore à l'état naturel à la faveur de circonstances très diverses (grandes propriétés privées, grandes forêts sans voie d'accès, domaines d'état, dimensions du pays dont tout n'est pas encore occupé, etc.) Ils ont reporté toute leur action protectrice sur ces régions et les ont organisées au double point de vue du maintien de cet état primitif et du tourisme.

Sans conteste, c'est aux Etats-Unis que revient l'honneur d'avoir créé la formule des Parcs Nationaux qui fonctionnent depuis l'installation du « Yellowstone National Park » en 1872, et que le monde entier adopte progressivement. Ils ont donné au monde une nouvelle conception de territoires non encore exploités et ont, en outre, mis au point un système d'organisation éprouvé.

Les Parcs Nationaux apportent donc une contribution nouvelle à l'utilisation policée d'un pays. Ils font partie d'un « Zoning » que les urbanistes considèrent comme essentiel dans l'exploitation raisonnée d'une contrée.

On pourrait définir le but d'un Parc National comme suit : il s'agit de garder pour

le bénéfice de notre génération et des générations futures des régions intéressantes aux points de vue scientifique et spectaculaire. Celles-ci doivent être considérées comme des sanctuaires ou plantes, animaux, sols et eaux sont préservés dans des conditions aussi primitives que possible.

Dans cette définition, il y a lieu de distinguer deux idées : la **première** considère comme désirable de garder pour la collectivité des territoires étendus (elle n'est au fond pas une innovation chez nous, puisque nous savons avec quelle patiente énergie les domaines communaux et domaniaux ont été constitués) ; la **seconde** indique comme but, de conserver ces territoires dans des conditions naturelles primitives : cette idée est nouvelle chez nous. Le but proposé ne correspond pas aux conceptions en usage car l'utilisation d'un territoire communal ou domanial n'a jamais été envisagée que sous la forme d'une exploitation industrielle, agricole ou forestière, à rendement économique.

Il convient de séparer de la définition des Parcs Nationaux, celle des **réserves scientifiques** qui, d'après le Congrès de Londres en 1933 sont des territoires dans lesquels tout acte tendant à produire des perturbations à la faune, à la flore, au sol et au système hydrographique est interdit et dans laquelle il est défendu de circuler sans autorisation spéciale. Ils sont destinés aux recherches scientifiques.

*
* *

Le problème des Parcs Nationaux est extrêmement difficile à résoudre dans notre pays. Cependant, il est possible d'entrevoir une solution parce qu'il s'agit uniquement d'un petit nombre d'emplacements, relativement vastes il est vrai, mais dans lesquels la politique conservatrice peut s'organiser techniquement.

Il n'est donc pas question qu'au nom de la protection de la nature, on freine l'utilisation normale du territoire national puisque c'est uniquement sur les quelques zônes décrétées intéressantes que l'on formera le « dernier carré » de la résistance. C'est dans ces quelques zônes qu'il faudra réussir à maintenir pour toujours les faciès naturels.

Comment faut-il procéder ? Nous avons l'exemple de nombreux pays qui ont réussi à créer et à gérer des Parcs Nationaux. Nous avons également l'exemple de la Belgique elle-même qui a réalisé les grands parcs africains d'une manière qui fait l'admiration des étrangers.

La première précaution à respecter et qui s'est imposée par l'expérience est d'organiser la gestion et la surveillance de ces territoires. Il ne suffit pas de les abandonner à eux-mêmes. Il ne suffit pas de délimiter un périmètre et de décréter son intangibilité :

D'abord, les ensembles d'êtres vivants qui les habitent doivent être surveillés ; il ne peut s'agir dans notre pays de conservation intégrale comme c'est le cas dans les colonies mais bien d'une sorte de conservation dirigée et même éventuellement de reconstitution de faciès et d'équilibres en voie de dégradation.

Ensuite, comme par définition les Parcs Nationaux sont accessibles aux visiteurs et comme il a été constaté qu'ils subissent grave préjudice de la fréquentation d'un public non discipliné, ils doivent aussi être l'objet de certaines précautions. En effet, les habitants du voisinage pourraient prendre l'habitude de venir chercher le bois et le gibier selon leurs désirs ou leurs besoins comme s'il s'agissait de régions banales, appartenant librement à tous. Les touristes nombreux et de bonne foi pourraient piétiner sans le savoir les plantes intéressantes, mettre les nichées en fuite, camper n'importe où avec les menaces d'incendies que cela comporte également.

L'existence d'un Parc National implique donc de réelles activités de conservation concernant les peuplements animaux et végétaux qui l'habitent, concernant aussi les passants et les touristes. Ces mesures imposent des interventions quotidiennes et régulières pour maintenir des complexes naturels en équilibre.

Des techniques spéciales doivent être mises en œuvre qui dépendent d'une science nouvelle que l'on pourrait appeler : Science de la Protection de la Nature. Elle fait appel aux connaissances des sciences naturelles mais aussi à l'arsenal des lois sur la pêche, la chasse, l'exploitation forestière, etc...

Il faut donc établir, si on veut aboutir dans une effective protection de la nature, une législation appropriée, fixant le statut que l'on doit pouvoir appliquer à un petit nombre de territoires suffisamment vastes pour que les éléments naturels s'y maintiennent normalement.

Ce programme, il faut que les Belges le réalisent avec d'autant plus d'urgence que le pays est petit et peuplé et qu'il a déjà perdu très largement son aspect naturel, sa diversité, son caractère, ses équilibres.

.....